



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

SELEKSI BAKTERI ANTAGONIS DARI TANAMAN SAWI (*Brassica juncea* L) SEBAGAI BIOFUNGSIDA TERHADAP *Colletotrichum gloesporioides* PENYEBAB ANTRAKNOSA PADA TANAMAN CABAI (*Capsicum* sp.)

SKRIPSI



**RAHMI HENDA YANI
07112010**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2012**

**SELEKSI BAKTERI ANTAGONIS DARI TANAMAN SAWI
(*Brassica juncea* L) SEBAGAI BIOFUNGISIDA TERHADAP
Colletotrichum gloeosporioides PENYEBAB ANTRAKNOSA
PADA TANAMAN CABAI (*Capsicum* sp.)**

OLEH

**RAHMI HENDA YANI
07 112 010**

SKRIPSI

**SEBAGAI SALAH SATU SYARAT
UNTUK MEMPEROLEH GELAR
SARJANA PERTANIAN**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2012**

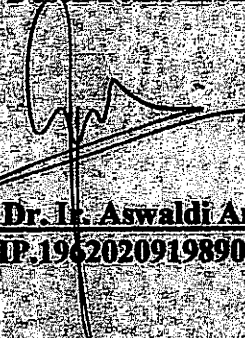
**SELEKSI BAKTERI ANTAGONIS DARI TANAMAN SAWI
(*Brassica juncea* L) SEBAGAI BIOFUNGISIDA TERHADAP
Colletotrichum gloeosporioides PENYEBAB ANTRAKNOSA
PADA TANAMAN CABAI (*Capsicum* sp)**

OLEH

**RAHMI HENDA YANI
07 112 010**

MENYETUJUI

Dosen Pembimbing I



**Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS
NIP.196202091989031002**

Dosen Pembimbing II



**Prof. Dr. sc. agr. Ir. H. Jamsari, MP
NIP.196802021992031003**

**Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**



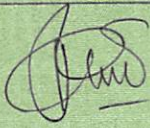
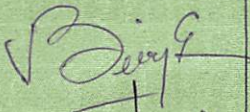
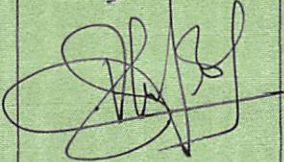
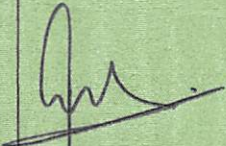

**Prof. Ir. Ardi, MSc
NIP.19531216 198003 1 004**

**Ketua Jurusan Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas**



**Ir. Fery Enzia, MS
NIP.19630315 198712 2 001**

Skripsi ini akan diuji dan dipertahankan di depan sidang Panitia Ujian Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang, pada tanggal 06 Juli 2012.

No	Nama	Tanda Tangan	Jabatan
1.	Ir. Rida Putih, MP		Ketua
2.	Dr. Ir. Benni Satria, MP		Sekretaris
3.	Dr. Ir. Istino Ferita, MS		Anggota
4.	Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS		Anggota
5.	Prof. Dr. sc. agr. Ir. H. Jamsari, MP		Anggota



Bismillah hirrahmanirrahim

Puji dan syukur ku yang tiada habisnya kepada Allah SWT,
atas segala rahmat dan karunian-Nya hingga skripsi ini ku selesaikan dengan baik.

Dari lubuk hati yang terdalam ku persembahkan karya kecil ini kepada
keluarga ku tersayang, Ibunda Hj. Susni Marlani dan Ayahanda Jhon Hendri
yang telah memberikan cinta, perhatian, pengorbanan, dan dukungan dan
semangat dalam menyelesaikan studi ini dengan sebaik-baiknya. Kakak ku tersayang,
Winda gusti endang S.Farm., Apt. apotik bukak lai,, adek ku bg Adit,
Sindy okta vianda rajin sekolah bia buek ama bangga,
abg ipar Brigita Riko saputra, berkat si biri skripsi ami selesai
tak lupa untuk seluruh keluarga besar ku atas semangatnya.

Terima kasih yang sebesar-besarnya untuk kedua pembimbingku
Prof. Dr. Ir. Anwaldi Anwar, MS dan Bapak Prof. Dr. sc. agr. Ir. H. Jamsari, MP
atas semua bimbingan, nasehat, dan masukan dalam menyelesaikan studi
dengan baik.

Untuk sahabat ku saudara ku Ariana Okta Vereska, SP⁴ (uun kaling),
Wenni triana, SP (Acik wen), Mestha Erona Sitepu SP (uplak sayang) ami sayang
kaliam,,,,,,*~*~* malata malata lai. III

Bindari rahmadian S.FP mudah2n kamu jd pengusaha sukses dah,,
Untuk Dazar, soraya, moci, mocari, sukarno, ketek yang selalu setia menemani
kemana kaki dan hati ingin bersenang senang.

Terimakasih atas Semangat, senjuman, masukan, kerja sama tak kan
terlupakan Mak caya, Siti nur aisyah (K' nui), adek Dilla, Ester, elly, Irma, femy, jetra, bg
zikri, Kk syarah, bg Ade (cemungut eaaa. III), buk lyly, pak mayzar,
terima kasih kepada seluruh keluarga besar labor biotek.,,,

Sahabatku seperjuangan, Syanti yalemat peak, Dero Orlando, Hendrik patritona,
Rendi sakma hidayat, Tomy putra, Guntur gumilang, Jarenti pinem,
BDP 07 (BDP last generation)

Saudara ku Dolly anna yulistin, Rozana Erwin, Randy marla titanus,
Fauzan yafrizal, 46 Community

Seseorang yang hadir memberi semangat di akhir perjuangan yang membuat
kuat menghadapi semuanya, terimakasih mas Ade Frana wijaya And'kep

"Love u All"
Rahmi Henda Yani, SP

BIODATA

Penulis dilahirkan di Bukittinggi Sumatra Barat pada tanggal 06 April 1989, sebagai anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan Jhon Hendri dan Susti Marleni. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) ditempuh di SD 46 Muaro Sijunjung, Lulus pada tahun 2001. Sekolah Mengengah Pertama di Tempuh di SMP 02 Muaro Sijunjung dan lulus tahun 2004. Sekolah Menengah Atas di tempuh di SMA 01 Muaro Sijunjung dan lulus tahun 2007. Selanjutnya diterima di Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Andalas pada program studi Pemuliaan Tanaman tahun 2007.

Padang , Juli 2012

Rahmi Henda Yani

KATA PENGANTAR

Syukur allhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah memberi kesehatan, kesempatan, kemampuan, rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Seleksi Bakteri Antagonis dari Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L) sebagai Biofungisida terhadap *Colletotrichum gloeosporioides* Penyebab Antraknosa pada tanaman cabai (*Capsicum* sp.)”.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir .Aswaldi Anwar, MS sebagai Pembimbing I dan Bapak Prof. Dr. sc. agr. Ir. H. Jamsari, MP sebagai Pembimbing II, yang telah memberikan bantuan, bimbingan, dan pengarahan kepada penulis mulai dari penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian, sampai penyusunan skripsi ini. Ucapan terimakasih juga penulis ucapkan kepada seluruh dosen, karyawan Fakultas Pertanian, dan semua pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini dalam penyusunannya masih terdapat kekurangan-kekurangan, maka penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Namun, besar harapan penulis semoga skripsi ini berguna dan bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan terutama dibidang pertanian.

Padang, Juli 2012

R. H. Y

DAFTAR ISI

	<u>Halaman</u>
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
III. BAHAN DAN METODA.....	12
3.1 Tempat dan Waktu.....	12
3.2 Bahan dan Alat.....	12
3.3 Metode Penelitian.....	13
3.4 Pelaksanaan	13
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1 Isolasi Bakteri	21
4.2 Uji Antagonisme Isolasi Bakteri Terhadap Pertumbuhan Jamur <i>C.gloeosporioides</i>	22
4.3 Pengujian Senyawa Ekstra Seluler dari Bakteri Terpilih.....	25
4.4 Identifikasi Morfologi Bakteri	27
4.5 Hasil Uji Gram Bakteri Terpilih	29
4.6 Isolasi DNA Bakteri	29
4.7 Amplifikasi Sekuens Gen Pengkode 16S-rRNA.....	31
4.8 Analisis Sekuens Gen 16S-rRNA Bakteri Terpilih	32
4.9 Analisis BLAST Sekuen DNA Bakteri.....	33
V. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR GAMBAR

<u>Gambar</u>	<u>Halaman</u>
1. Bagan alur kegiatan penelitian	13
2. Skema pengujian antagonis koloni bakteri	16
3. Beberapa isolat hasil isolasi bakteri dari tiga lokasi pengambilan sampel A.Kecamatan Gunuang Talang B. Kecamatan Aia Batumbuak C. Kecamatan Danau Kembar	22
4. Hasil uji antagonisme bakteri terhadap jamur <i>C.gloeosporioides</i>	23
5. Pertumbuhan diameter jamur <i>C.gloeosporioides</i> pada hari ke7 yang dibandingkan dengan pertumbuhan kontrol	24
6. Pengujian ekstrak ekstraseluler bakteri yang menghambat pertumbuhan jamur.....	25
7. Pertumbuhan diameter jamur <i>C. gloeosporioides</i> selama 7 hari yang di inokulasi pada media PDA yang diberikan ekstrak ekstraseluler bakteri.....	26
8. Pertumbuhan diameter jamur <i>C. gloeosporioides</i> selama 7 hari yang di inokulasi pada media PDA yang diberikan ekstrak ekstraseluler bakteri.....	27
9. Visualisasi hasil isolasi DNA bakteri terpilih.....	30
10. Visualisasi hasil amplifikasi DNA bakteri dengan primer spesifik 27F dan 1525R.....	31
11. Sekuens isolat bakteri terpilih setelah dilakukan pengeditan dengan hasil urutan nukleotida	33

DAFTAR TABEL

<u>Tabel</u>	<u>Halaman</u>
1. Jumlah isolat hasil isolasi bakteri dari 3 lokasi pengambilan sampel	21
2. Data pertumbuhan jamur <i>C. gloeosporioides</i> pada pengujian ekstrak ekstra seluler bakteri isolat UBCFBj_1	26
3. Data pertumbuhan jamur <i>C. gloeosporioides</i> pada pengujian ekstrak ekstra seluler bakteri isolat UBCFBj_13	26
4. Hasil Pengamatan koloni dari isolat bakteri terpilih	28
5. Hasil analisis BLAST dari isolate bakteri UBCFBj_1 dan UBCFBj_13	34

DAFTAR LAMPIRAN

<u>Lampiran</u>	<u>Halaman</u>
1. Jadwal penelitian dari bulan Oktober 2011 – Juni 2012	41
2. Ciri-ciri jamur <i>Colleototrichum gloeosporoides</i> penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai	42
3. Data morfologi koleksi isolate bakteri dari tanaman sawi	43
4. Data diameter pertumbuhan jamur <i>C. gloeosporioides</i> pada pengujian antagonisme koloni isolat	48

**SELEKSI BAKTERI ANTAGONIS DARI TANAMAN SAWI
(*Brassica juncea* L.) SEBAGAI BIOFUNGISIDA TERHADAP
Colletotrichum gloeosporioides. PENYEBAB ANTRAKNOSA PADA
TANAMAN CABAI (*Capsicum* sp.)**

ABSTRAK

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *C.gloeosporioides* dan menentukan identitas spesies bakteri tersebut dengan menggunakan data sekuensing gen pengkode 16S rRNA. Isolat bakteri dari daun tanaman sawi yang diambil dari 3 kecamatan di Kabupaten Solok diuji aktivitas antagonisnya dan didapatkan 23 isolat yang berpotensi menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*. Selanjutnya dilakukan pengujian ekstrak ekstraseluler bakteri dengan menggunakan *cork borer*. Dari pengujian ini didapatkan 2 isolat bakteri yang dilanjutkan ke isolasi DNA bakteri dengan prosedur berdasarkan metode Jeff Newman. Hasil isolasi kemudian dikonfirmasi dengan amplifikasi *in-vitro* menggunakan kombinasi primer 27F dan 1525R dan diverifikasi sekuensnya melalui sekuensing. Penentuan identitas bakteri dilakukan dengan mengakses database publik NCBI menggunakan analisis BLAST. Hasil analisis didapatkan bakteri spesies *Bacillus* dan *Parachlamydia-related symbiont* UWE25.

**SELECTION OF ANTAGONIS BACTERIA FROM GREEN
MUSTARD (*Brassica juncea* L.) AS BIOFUNGICIDE FOR
Colletotrichum gloeosporioides, A CAUSAL OF ANTRACHNOSE IN
CHILI PEPPER (*Capsicum* sp.)**

ABSTRACT

This research was done in the laboratory of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Andalas University. The purpose of the study was to collect the bacteria isolates that are capable for inhibiting the growth of fungi *C.gloeosporioides* and to determine the identity of bacteria species by using sequence data of 16S rRNA encoded gene. Bacteria isolates from leaves of green mustard collected from three subdistricts in Regency of Solok have been tested for their antagonis activity and obtained 23 potential isolates that showed the capability in inhibiting fungi growth. The testing of bacterial extracellular extracts was done by using *cork borer*. From this experiment, two selected bacterial isolates were continued to bacterial DNA isolation by using method of Jeff Newman. Then they were confirmed by *in-vitro* amplification using primer combination of 27F and 1525R and verified them sequences through sequencing. Detemination of bacteria identity was conducted by accessing database at public database NCBI by using BLAST analysis. The result showed that obtained bacteria have high similarity with spesies *Bacillus* and *Parachlamydia-related symbiont* UWE25.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Indonesia memiliki tanaman hortikultura yang cukup potensial untuk dikembangkan secara intensif. Ada beberapa komoditi hortikultura yang diunggulkan oleh pemerintah. Beberapa di antaranya adalah bawang merah, kentang, cabai, tomat, dan kubis (Badan Pusat Statistik, 2010).

Tanaman cabai (*Capsicum sp*) merupakan komoditi sayur-sayuran yang termasuk genus *Capsicum*, dimana pada umumnya mempunyai rasa yang pedas. Cabai bukanlah tanaman asli Indonesia tetapi cabai berasal dari Meksiko, Peru, dan Bolivia namun sekarang ini sudah tersebar di seluruh dunia. Colombus menemukan tanaman cabai pertama kali tahun 1493 dan dibawa ke Eropa. Cabai yang ada di Indonesia pada saat sekarang ini berasal dari Eropa (Prajnanta, 2002).

Tanaman cabai merupakan tanaman penghasil buah dan salah satu tanaman sayuran yang bernilai ekonomi tinggi. Tanaman ini dapat digunakan sebagai bahan bumbu masak (rempah-rempah), bahan makanan, maupun sebagai bahan mentah dalam industri farmasi, industri bahan makanan olahan yang menggunakan cabai sebagai bahan baku utamanya seperti industri sambal, saus dan mie instan.

Permintaan cabai dari waktu ke waktu selalu meningkat. Secara nasional produktifitas cabai di Indonesia masih rendah yakni 5,89 ton/ha pada tahun 2009 (Badan Pusat Statistik, 2010). Padahal potensi produksinya dapat mencapai 12 ton per hektar (Purwati, 2000). Rendahnya produktifitas cabai di Indonesia disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya disebabkan oleh hama dan penyakit.

Salah satu penyakit yang dapat menurunkan produktifitas tanaman cabai adalah penyakit antraknosa yang disebabkan oleh jamur *Colletotrichum sp* (Semangun 2000), di antaranya *Colletotrichum capsici* dan *Colletotrichum gloeosporoides* (Suryaningsih, Sutarya, Duriat, 1996). Penyakit tersebut dapat menyebabkan kerugian yang sangat besar bagi petani cabai baik di daerah tropis maupun subtropis. Patogen penyebab antraknosa dapat menyerang cabai muda, cabai masak atau cabai yang sudah dipasarkan sehingga menyebabkan buah

membusuk atau kering sehingga tidak dapat dipasarkan. Syamsudin (2007) menyatakan bahwa, penyakit antraknosa ini menyebabkan kerusakan sejak dari persemaian sampai tanaman cabai berbuah, dan merupakan masalah utama yang berakibat serius terhadap penurunan hasil tanaman.

Pengendalian penyakit antraknosa di lapangan didominasi oleh fungisida dengan pemakaian yang berlebihan, yang dapat merugikan baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu diperlukan alternatif melalui pemanfaatan mikroorganisme antagonis sebagai agen pengendalian hayati yang tidak menimbulkan dampak negatif (Gunawan, 2005).

Tanaman sawi merupakan tanaman sayuran yang banyak dibudidayakan dan mampu hidup di dataran tinggi. Karena pengaruh suhu yang lembab di lingkungan tersebut tanaman sawi cenderung terserang berbagai penyakit baik itu dari jamur, bakteri, virus yang terutama menyerang daun tanaman tersebut (Samangun, 2007).

Bagian tanaman yang terserang umumnya pada bagian daun, akan tetapi dari sebagian daun yang terserang penyakit ada pula yang tidak. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh adanya kompetisi antara beberapa patogen yang menyerang tanaman itu (Habazar, 2006). Dari bagian daun yang tidak terserang penyakit ada yang dapat bertahan tumbuh normal, karena dimungkinkan adanya mikroorganisme antagonis yang mampu mempertahankan diri dari serangan penyakit.

Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan identifikasi terhadap bakteri dari tanaman sawi untuk mendapatkan bakteri yang bersifat antagonis, yang mampu mempertahankan diri dari penyakit. Hasil dari seleksi bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Colletotricum sp* dapat dimanfaatkan sebagai materi untuk pengembangan senyawa antiantraknosa dan untuk bahan rekayasa genetika yang merupakan bagian awal dalam program penanganan penyakit antraknosa.

Berdasarkan uraian di atas penulis telah melakukan penelitian dengan judul : **“Seleksi bakteri antagonis dari tanaman sawi (*Brassica juncea L*) sebagai biofungisida terhadap *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab antraknosa pada tanaman cabai (*Capsicum sp.*)”**.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk 1) Mendapatkan isolat bakteri yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum sp* pada tanaman cabai 2) Mengidentifikasi bakteri antagonis dari tanaman sawi yang menghasilkan senyawa biofungisida untuk pengendali jamur *Colletotrichum sp* pada tanaman cabai.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Cabai dan Penyakit Antraknosa

Indonesia memiliki tanaman hortikultura yang cukup potensial untuk dikembangkan secara intensif karena adanya kebijaksanaan pemerintah untuk mengembangkan sub sektor ini. Ada beberapa komoditi hortikultura yang diunggulkan oleh pemerintah, diantaranya adalah bawang merah, kentang, cabai, tomat, dan kubis (Badan Pusat Statistik, 2010).

Tanaman cabai (*Capsicum* sp) merupakan komoditi sayur-sayuran yang termasuk pada genus *Capsicum*, pada umumnya mempunyai rasa yang pedas. Cabai yang ada di Indonesia pada saat sekarang ini berasal dari Eropa (Prajnanta, 2002). Cabai (*Capsicum* sp) merupakan suatu komoditas sayuran yang tidak dapat ditinggalkan masyarakat dalam kehidupan sehari-hari. Berdasarkan asal usulnya, cabai berasal dari Peru. Ada yang menyebutkan bahwa bangsa Meksiko kuno sudah menggemari cabai semenjak tahun 7000 jauh sebelum Columbus menemukan benua Amerika (1492). Cristophus Colombus kemudian menyebarkan dan mempopulerkan cabai dari Benua Amerika ke Spanyol pada tahun 1492. Pada awal tahun 1500-an, bangsa Portugis mulai memperdagangkan cabai ke Makao dan Goa, kemudian masuk ke India, Cina dan Thailand. Sekitar tahun 1513 Kerajaan Turki Usmani menduduki wilayah Portugis di Hormuz, Teluk Persia. (Prajnanta, 2002).

Tanaman cabai termasuk tanaman yang mempunyai tinggi batang tanaman antara 65 cm-120 cm, dengan lebar tajuk 50 cm-90 cm. Pada umumnya bunga berbentuk terompet dan termasuk golongan bunga lengkap, berdiri tunggal, dan berkelompok pada ketiak daun. Bunga jantan biasanya mengandung enam helai kelopak bunga yang berwarna hijau dan kepala putik yang lebih panjang dari benang sari. Dalam satu bunga terdapat satu pucuk dan enam benang sari (Prajnanta, 2008).

Secara nasional produktifitas cabai di Indonesia masih rendah yakni 5,89 ton/ha pada tahun 2009 (Badan Pusat Statistik, 2010). Pada hal potensi produksinya dapat mencapai 12 ton per hektar (Purwati,*et al.*, 2000). Rendahnya

produktifitas cabai di Indonesia disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya disebabkan oleh hama dan penyakit.

Penyakit utama yang dapat menurunkan produktifitas tanaman cabai adalah penyakit antraknosa yang disebabkan oleh jamur *Colletotrichum sp* (Semangun, 2000), diantaranya *Colletotrichum capsici* dan *Colletotrichum gloeosporoides* (Suryaningsih, *et al.*, 1996). Penyakit antraknosa disebut juga penyakit busuk buah. Antraknosa pada cabai disebabkan oleh jamur genus *Colletotrichum*, yang digolongkan menjadi lima spesies utama yaitu *C.capsici*, *C. gloeosporoides*, *C. acutatum*, *C. dematium* dan *C. coccodes* (kim, *et al.*, 1999). Spesies *C. gloeosporoides* dan *C. acutatum* menyebabkan kerusakan pada buah dan kehilangan hasil paling besar (Yoon, 2003).

Penyakit antraknosa dapat berkembang dengan baik setelah panen jika pengepakan dan pengemasan tidak dilakukan dengan baik, buah cabai yang ditumpuk sembarangan dan tidak disusun dengan rapi akan menyebabkan buah cabai patah-patah (Setiadi, 1999). Siklus hidup dari jamur *Colletotrichum capsici* yang terdapat pada tanaman Cabai (*Capsicum annum*) yaitu berawal dari buah masuk menginfeksi biji. Pada umumnya jamur ini menginfeksi semai yang tumbuh dari biji buah yang sakit. Jamur ini juga menyerang daun dan batang, hingga buah tanaman dan dapat mempertahankan dirinya dalam sisa-sisa tanaman sakit. Kemudian konidia dari jamur ini akan disebarkan oleh angin (Anonim, 2008). Sedangkan jamur *Colletotrichum gloeosporoides* menyerang dengan gejala awal bintik-bintik berwarna kehitaman, berlekuk pada buah yang masih hijau atau yang sudah masak. Tepi bintik berwarna kuning membesar dan memanjang pada bagian tengahnya semakin gelap dan dalam cuaca lembab jamur ini membentuk aservuli dalam lingkaran yang konsentris dengan masa spora berwarna merah jambu (Semangun, 1989).

Serangan penyakit antraknosa pada buah masak lebih parah dibandingkan dengan buah yang belum masak (masih hijau). Buah cabai yang masak mengandung glukosa, sukrosa, dan fruktosa, sedangkan buah yang hijau hanya mengandung sukrosa dan glukosa. Dengan demikian diduga fruktosa merupakan jenis gula yang mempunyai korelasi dengan penyakit antraknosa, sehingga

fruktosa dalam buah dapat dijadikan karakter seleksi ketahanan tanaman cabai terhadap serangga antraknosa (Tenaya, 2001).

Usaha pengendalian antraknosa salah satunya adalah dengan menginduksi ketahanan tanaman cabai. Pengendalian yang sering digunakan oleh petani adalah dengan menggunakan fungisida. Penggunaan fungisida didasarkan pada prinsip antibiotik antar tanaman. Prinsip lainnya yang berpotensi untuk mengendalikan penyakit yaitu penggunaan bahan kimia sintetis yang mampu memicu ketahanan tanaman (Hersanti, *dkk*, 2001).

2.2 Pengendalian Penyakit Antraknosa

Pengendalian penyakit antraknosa di lapangan biasa didominasi oleh fungisida dengan pemakaian yang berlebihan, yang dapat merugikan baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu dilakukan alternatif dengan pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen pengendalian hayati yang tidak menimbulkan dampak negatif (Gunawan, 2005).

Pestisida sintetis adalah bahan-bahan kimia yang bersifat racun yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan, tingkah laku, perkembangbiakan, kesehatan, mempengaruhi hormon, penghambat makan, membuat mandul, sebagai pemikat, penolak, dan aktifitas lainnya yang dapat mempengaruhi organisme pengganggu tanaman. Oleh karena itu diperlukan fungisida alternatif dalam rangka pengendalian penyakit antraknosa yang ramah lingkungan serta aman terhadap konsumen. Salah satu cara untuk mencapai tujuan ini adalah pemanfaatan fungisida nabati yang berasal dari tumbuhan (Kardianan 2002).

Bakteri sebagai agen biokontrol mempunyai beberapa kelebihan diantaranya adalah bakteri merupakan mikroorganisme yang banyak terdapat di tanah. Produksi massa bakteri juga lebih mudah dan lebih cepat daripada mikroorganisme lain seperti jamur. Bakteri sebagai agen biokontrol yang pernah dilaporkan adalah *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Streptomyces* (Shoda, 2000).

Keberadaan mikroorganisme dapat digunakan sebagai pengendali organisme pengganggu tanaman (OPT) selain pemakaian pestisida kimiawi dan pestisida botani. Mikroorganisme pengendali OPT sering juga disebut sebagai

pestisida biologi atau biopestisida (Novizan, 2002). Biofungisida menyediakan alternatif yang dapat dipakai untuk mengendalikan penyakit jamur.

Pengendalian hayati adalah penggunaan atau pemanfaatan musuh alami yang telah ada atau diintroduksi ke tanaman untuk pengendalian jasad pengganggu atau OPT. Berdasarkan konsep pengendalian hama terpadu pengembangan teknologi harus menekan penggunaan pestisida. Menurut Yacobsen dan Beckman (1993) sebagai alternatif penggunaan pestisida dilakukan pengendalian secara kultur teknis dan hayati.

Pengendalian hayati merupakan inti dari pengendalian hama terpadu. Pengendalian hayati dalam jaringan tanaman antara lain melalui sistem pertahanan tanaman atau penggunaan organisme antagonis terhadap patogen. Mekanisme dalam pengendalian hayati secara langsung terhadap patogen tanaman meliputi antibiosis, kompetisi dan parasitisme (Habazar, 2006)

Banyak organisme penghasil antibiotik secara komersial diisolasi dari tanah, tetapi ada juga yang diisolasi dari bagian tanaman seperti daun, buah, bunga, dan lain –lain. Peranan senyawa ini dalam proses antagonis *invitro* ditunjukkan dengan adanya zona hambatan yang disebabkan oleh metabolit inhibitor (penghambat) (Habazar, 2000). Bakteri penghasil antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan mempunyai daya hambat terhadap kegiatan mikroorganisme lain. Beberapa bakteri yang menghasilkan antibiotik adalah: *Bacillus brevis* menghasilkan terotrisin, *Bacillus subtilis* menghasilkan basitrasin, *Bacillus polymyxa* menghasilkan polimixin (Novizam, 2002).

Menurut Andrews, (1984) *cit* Campbell (1989), komponen pengendalian hayati terdiri dari patogen, yang meliputi golongan mikroorganisme (jamur, bakteri, protozoa, ganggang), hewan (nematoda), biji tumbuhan parasit, yang dapat mengganggu tanaman. Mikroorganisme antagonis identik dengan musuh alami yang menghambat proses pertumbuhan suatu organisme oleh organisme lain. Pengaruh antagonistik terhadap patogen bagian atas tanaman (filoplan) telah terkenal relatif awal dari penyebaran patogen (Habazar, 2006).

Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dan lebih tersebar luas dibandingkan makhluk hidup yang lain. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di darat hingga lautan dan pada tempat-tempat yang ekstrim.

Bakteri ada yang menguntungkan tetapi ada pula yang merugikan (Wikipedia, 2010).

2.3 Tanaman Sawi

Tanaman sawi merupakan tanaman semusim yang banyak mengandung vitamin A, B, dan C. Tinggi tanaman sekitar 20 – 60 cm. Batang sawi tidak bercabang sebagian daun berbentuk bulat telur dan agak keriput memanjang ke arah pangkal tulang daun tengah yang lebar dan pipih (Hendrosudaryono, 1999)

Tanaman sawi mempunyai kecocokan terhadap iklim, cuaca dan tanah di Indonesia sehingga perlu dikembangkan dan dibudidayakan. Tanaman sawi dapat tumbuh baik di tempat yang berhawa panas maupun berhawa dingin, sehingga dapat diusahakan dari dataran rendah maupun dataran tinggi. Meskipun demikian pada kenyataannya hasil yang diperoleh lebih baik di dataran tinggi. Daerah penanaman yang cocok adalah mulai dari ketinggian 5 meter sampai dengan 1.200 meter di atas permukaan laut. Namun biasanya dibudidayakan pada daerah yang mempunyai ketinggian 100 meter sampai 500 meter dpl. Tanaman sawi tahan terhadap air hujan, sehingga dapat ditanam sepanjang tahun. Pada musim kemarau yang perlu diperhatikan adalah penyiraman secara teratur, berhubung dalam pertumbuhannya tanaman ini membutuhkan hawa yang sejuk dan lebih cepat tumbuh apabila ditanam dalam suasana lembab (Hendrosudaryono, 1999)

Penyakit yang biasanya menyerang tanaman kubis – kubisan adalah busuk hitam (*Black rot*) yang disebabkan *Xanthomonas campestris down*. Gejala awal yang timbul adalah pada tepi daun dan berlanjut hingga klorosis membentuk huruf V. Serangan umumnya terjadi pada pori daun, tetapi tidak menutupi kemungkinan dapat menyerang di bagian daun mana saja yang telah terserang serangga ataupun luka secara mekanis sehingga memudahkan bakteri masuk. Bakteri ini menyerang jaringan pengangkutan tanaman menyebabkan warnanya menjadi hitam. Busuk hitam juga dapat menyebabkan terjadinya busuk lunak (Semangun, 2007).

Penyakit busuk lunak ini sangat sering dijumpai pada tanaman kubis – kubisan. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia carotovora* ini ditemukan di seluruh dunia. Busuk lunak dapat menyerang seluruh tanaman kubis-kubisan, tetapi lebih sering menyerang sawi putih dan kubis (Semangun, 2007). Jaringan tanaman yang terserang menunjukkan gejala basah. Bagian tanaman yang terkena

menjadi lunak dan berubah warna menjadi gelap apabila serangan terus menerus berkelanjutan. Tanaman yang terkena busuk lunak menimbulkan bau yang khas yang kemungkinan disebabkan oleh adanya perkembangan organisme lain setelah pembusukan terjadi. Serangan ini bisa terjadi di lahan, saat pengangkutan ataupun saat penyimpanan. Bakteri busuk lunak timbul dari tanaman yang telah terinfeksi, melalui akar tanaman, dari tanah, dan beberapa serangga. Luka pada tanaman seperti luka pada daun, serangan serangga, kerusakan mekanis, ataupun bekas serangan dari patogen lain merupakan sasaran yang empuk untuk serangan bakteri. *Erwinia carotovora* adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang dan hidup soliter atau berkelompok dalam pasangan atau rantai, merupakan bakteri tanpa spora dan berflagela (Semangun, 2007).

Salah satu cara mengatasi kerugian tanaman akibat serangan *Erwinia carotovora* dan *Ralstonia solanacearum* adalah dengan merakit kultivar yang tahan terhadap penyakit tersebut. Sumber sifat ketahanan dapat diperoleh dari beberapa spesies liar dan kerabat dekat. Beberapa spesies liar dan kerabat dekat yang memiliki sifat ketahanan atau toleransi tinggi terhadap penyakit bakteri telah digunakan sebagai sumber gen ketahanan seperti introgresi gen tahan dari *S. phureja* (Fock *et al.*, 2000).

2.4 Analisis molekuler

Isolasi DNA merupakan tahapan awal yang harus dipahami dalam analisis molekuler. Prinsip dasarnya adalah upaya untuk membebaskan material genetik dari dinding sel dan ikatan protein-protein histon yang terutama sekali terletak di dalam inti sel dengan mengupayakan tingkat kerusakan mekanis maupun fisis seminimal mungkin terhadap material genetik tersebut (Jamsari, 2007).

DNA yang diperoleh dari hasil isolasi bukan DNA murni melainkan terdapat campuran RNA dan jenis protein lain dengan berat molekul yang berbeda dengan DNA, hingga untuk melakukan pemisahan molekul dilakukan dengan teknik elektroforesis. Teknik elektroforesis merupakan salah satu teknik pemisahan molekul dengan menggunakan arus listrik yang memanfaatkan prinsip perbedaan besar / berat molekul ataupun berdasarkan jenis muatan listrik dan titik



isoelektriknya (Jamsari, 2007). Senyawa agarose adalah bahan yang sering digunakan dalam teknik elektroforesis.

Teknik PCR merupakan suatu teknik Amplifikasi DNA secara *in vitro* yang pertama kali diperkenalkan oleh Karry Mullis pada pertengahan tahun 1980-an. Prinsip dasar proses PCR (*Polymerase Chain Reaction*) adalah perbanyakan atau pelipatgandaan secara eksponensial molekul-molekul spesifik DNA dengan bantuan primer-primer yang berupa oligonukleotida secara *in vitro*. Untuk melaksanakan proses PCR tersebut, material yang dibutuhkan adalah molekul DNA yang akan dianalisis. Molekul DNA ini berfungsi sebagai *template* untuk pembentukan molekul DNA selanjutnya. Dibutuhkan pula primer berupa oligonukleotid, enzim DNA polymerase yang akan mensintesis sekuens DNA baru dengan menggunakan nukleotid-nukleotid bebas yang terdapat pada larutan reaksi dan larutan buffer yang mengandung garam Magnesium Chlorida ($MgCl_2$), dan desoxynukleotid (dNTPs). Ion magnesium dibutuhkan sebagai kofaktor enzim DNA polymerase (Jamsari, 2007).

Reaksi polipatgandaan suatu fragmen DNA dimulai dengan melakukan denaturasi DNA *template* (cetakan) hingga rantai DNA yang berantai (*double stranded*) akan terpisah menjadi rantai tunggal (*single stranded*). Denaturasi DNA dilakukan dengan menggunakan panas ($95^{\circ}C$) selama 1-2 menit, kemudian suhu diturunkan menjadi $55^{\circ}C$ sehingga primer akan menempel (*annealing*) pada cetakan yang telah terpisah menjadi rantai tunggal. Primer akan membentuk jembatan hidrogen dengan cetakan pada daerah sekuen yang komplementer dengan sekuen primer. Suhu $55^{\circ}C$ yang digunakan untuk penempelan primer pada dasarnya merupakan kompromi atau tergantung karakteristik dari primer yang digunakan. Selanjutnya adalah reaksi pembentukan molekul DNA sintesis (*extension*) dari bahan dNTPs. Reaksi-reaksi tersebut di atas diulang sampai 25-30 kali (siklus) sehingga pada akhir siklus akan didapatkan molekul-molekul DNA rantai ganda yang baru hasil polimerasi dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah DNA cetakan yang digunakan. Hoelzel dan Green (1992) menyebutkan adanya banyak faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan PCR, diantaranya komposisi dan konsentrasi yang optimal dari pereaksi PCR serta profil pertukaran panas dan jumlah siklus.

Selanjutnya, untuk mendapatkan informasi mengenai keragaman genetik digunakan analisis sekuens asam nukleat. Sekuensing asam nukleat adalah proses penentuan urutan nukleotida pada suatu fragmen DNA atau RNA. Penentuan sekuens RNA biasanya dilakukan dengan menggunakan sekuensing terhadap DNA cetakannya. Hampir semua kegiatan sekuensing DNA dilakukan dengan menggunakan metode terminasi rantai yang dikembangkan oleh Frederick Sanger dan rekan-rekannya. Teknik tersebut melibatkan penghentian reaksi sintesis DNA *in vitro* yang spesifik untuk sekuens tertentu menggunakan substrat nukleotida yang telah dimodifikasi (Suryanto, 2003).

Kunci untuk mengerti keragaman mikroba adalah sistem klasifikasi yang dapat diandalkan. Secara tradisional, bakteri diklasifikasikan terutama berdasarkan sifat-sifat fenotipik. Akan tetapi hasilnya tidak selalu dapat diandalkan secara filogeni. Metode molekuler terutama klasifikasi dan identifikasi berbasis filogenetik, menggunakan parameter yang tidak bergantung pada kondisi pertumbuhan dan media yang digunakan. Pendekatan yang umum dipakai saat ini adalah analisis sekuens gen 16S-rRNA (Case *et al.* 2007).

Saat ini basis data (*data-base*) untuk banyak gen 16S-rRNA dan 18S-rRNA tersedia dan disimpan misalnya dalam *Gene-bank*, dan dapat diakses misalnya melalui [http:// www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk). Demikian juga untuk gen dan genus bakteri lainnya. Perbandingan secara *online* dapat juga dilakukan dengan menggunakan layanan internet dari *genebank* pada program BLAST NCBI (*National Centre of Biotechnology Information*) pada *web site* [http://www.ncbi.nlm.nih. Gov/BLAST](http://www.ncbi.nlm.nih.Gov/BLAST) (Jamsari, 2007).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Penelitian dilakukan dari bulan Oktober 2011 sampai Juni 2012. Jadwal kegiatan dapat dilihat pada Lampiran 1. Lokasi pengambilan sampel adalah di Kabupaten Solok dengan tiga tempat yang berbeda yaitu Kecamatan Gunung Talang, Kecamatan Aia Batumbuak, dan Kecamatan Danau Kembar.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain : daun tanaman sawi segar yang tidak terserang penyakit, isolat jamur *Colletotrichum gloeosporoides* (ciri-ciri pada Lampiran 2), larutan fisiologis (aquades dan NaCl), *nutrient agar*, aquades, gliserol 15%, d-glukosa, agar premium, umbi kentang, alkohol 70%, 1 x TE (Tris-EDTA), SDS 10%, proteinase K, phenol:Cholorofom (24:24), NaCOOH 3M, isopropanol, ethanol 70%, alcohol 70%, *agarose* 1%, *buffer* TBE, ethidium bromide, bromo phenol blue (BPB), λ DNA 50 ng/ μ l, bead RTG PCR-Bead (Ge-Healthcare-UK), kombinasi primer 27F dan 1525R gen 16S-rRNA, ddH₂O PCR, korek api, kertas label, aluminium foil, kertas wrap, spritus.

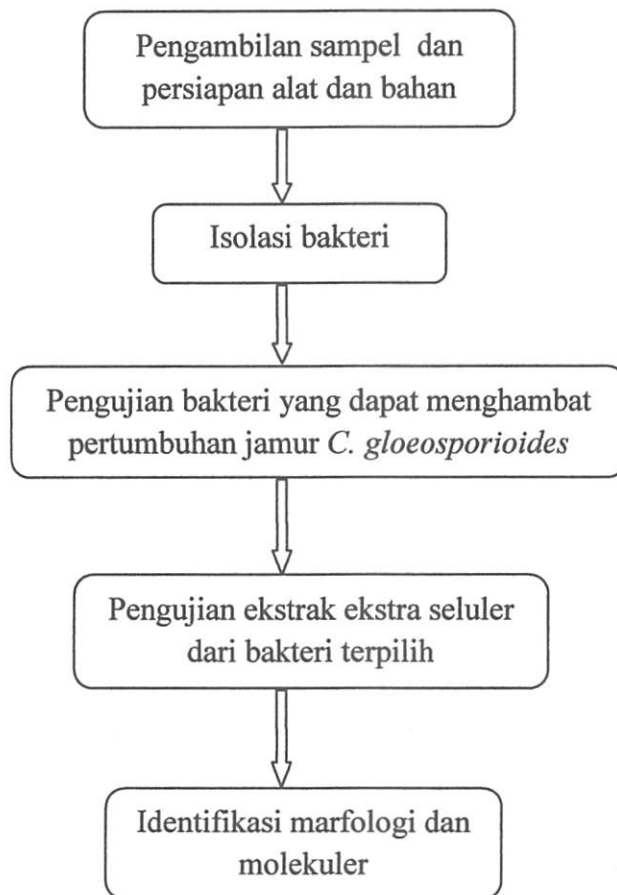
Alat yang dipakai dalam penelitian ini adalah cawan petri berdiameter 9 cm, tabung reaksi, erlemeyer, mortar, spatula, bunsen, gelas ukur, batang pengaduk, jarum ose, autoklaf, inkubator, *shaker*, vortex, sterile syringe filter, *Laminar Air Flow Cabinet*, timbangan analitik, kompor listrik, oven, lemari es, tabung *eppendorf* 2 dan 1,5ml, saringan teh, tisu, tusuk gigi, kamera digital, mesin PCR (Biometra-Jerman), sentrifus, elektroforesis, perangkat sistem gel dokumentasi dan alat tulis.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode eksperimen dan deskriptif. Metode eksperimen dilakukan pada kegiatan seleksi bakteri antagonis pada sampel daun tanaman sawi dengan teknik pengambilan sampel *purposive sampling* dimana sampel yang diambil sesuai dengan kriterianya. Adapun kriteria sampel yang diambil yaitu mengambil daun tanaman sawi yang tidak terserang hama dan penyakit yaitu daun yang subur dan sehat dari populasi tanaman sakit yang ada di sekitar lokasi pertanaman. Sedangkan metode deskriptif dilakukan pada analisis data morfologi dan analisis data sekuens bakteri antagonis.

3.4 Pelaksanaan

Prosedur urutan tahapan kerja dalam kegiatan penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan alur kegiatan penelitian.



3.4.1 Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel adalah di Kabupaten Solok, dengan tiga lokasi yang berbeda yaitu Kecamatan Gunung Talang, Kecamatan Aia Batumbuak, dan Kecamatan Danau Kembar. Pada setiap lokasi sampel diambil tanaman sawi yang sehat dari populasi tanaman sakit di sekitarnya. Sampel daun yang diambil pada bagian tengah (daun kedua) yang berwarna hijau. Diambil dengan menggunakan gunting steril. Banyak sampel yang diambil adalah 3 helai daun dan dibawa ke laboratorium dengan meletakkan daun dalam kertas koran.

3.4.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Kegiatan ini meliputi sterilisasi alat seperti beaker glass, cawan petri berdiameter 9 cm, spatula, erlemeyer, tabung eppendorf, tip mikro pipet, tusuk gigi, serta sterilisasi media dengan menggunakan *autoclave* pada tekanan 15 psi dan suhu 121°C.

3.4.3 Pembuatan Medium

3.4.3.1. Medium NA (*Nutrient Agar*)

Aquadest dimasukkan sebanyak 200 ml kedalam erlemeyer, setelah itu ditimbang bubuk NA sebanyak 5,6 gram. Kemudian dicampurkan aquadest dengan NA menjadi satu, diaduk sampai rata dan sterilisasi kedalam autoklaf pada tekanan 15 psi pada suhu 121°C.

3.4.3.2. Pembuatan Medium PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Kentang ditimbang sebanyak 200 gram, kemudian umbi kentang dibersihkan dan kulitnya dikupas, dicuci dan dipotong dengan ukuran 1 cm menyerupai dadu. Kemudian dimasak kedalam erlemeyer berukuran 1000 ml, dengan menambahkan 500 ml aquadest dan dimasak sampai mendidih sambil diaduk dengan batang pengaduk. Setelah mendidih, rebusan kentang disaring, ampas umbi kentang dibuang dan diambil airnya. Selanjutnya ditambahkan gula pasir sebanyak 20 gram dan 15 gram agar premium dan dimasak hingga berbuih sambil diaduk dengan batang pengaduk. Setelah itu media disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 15 psi pada suhu 121°C.

3.4.4 Isolasi Bakteri

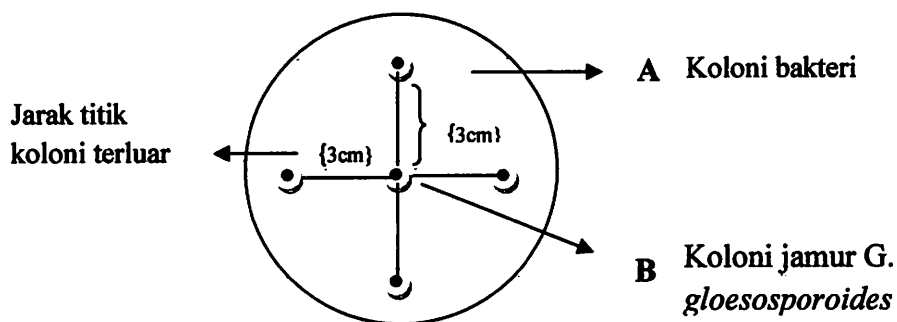
Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran menurut metode Lister (1865). Teknik pengenceran yang dilakukan adalah teknik pengenceran bertingkat. Tujuan dari pengenceran bertingkat adalah untuk memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan.

Masing-masing sampel daun ditimbang 5 gram dengan timbangan digital. Daun tersebut dicuci dengan air mengalir, lalu digerus dan dimasukkan kedalam tabung elemeyer yang telah berisi 100 ml larutan fisiologis (aguades dan NaCl) sebagai larutan stok, lalu di-*shaker* selama 24 jam. Dari larutan stok diperkirakan konsentrasinya 10^{-2} , karena mengandung 5 gram daun dalam 100 ml larutan fisiologis. Dari masing-masing stok suspensi daun tersebut dilakukan pengenceran sampai 10^{-7} dengan larutan fisiologis dengan cara mengambil 1 ml larutan stok kemudian dimasukkan kedalam 9 ml larutan fisiologis sehingga konsentrasi menjadi 10^{-3} , dan begitu seterusnya sampai menghasilkan konsentrasi 10^{-7} . Dari hasil pengenceran diambil dengan pipet tetes sebanyak 0,1 ml kemudian ditumbuhkan medium padat NA (*Nutrient Agar*) di dalam cawan petri dengan metode *spread plate* selama 2 hari.

Setelah koloni tumbuh, koloni tersebut diseleksi berdasarkan morfologi yang berbeda, meliputi: bentuk koloni, warna koloni, dan tepian koloni bakteri yang telah tumbuh pada media NA. Selanjutnya dilakukan pemurnian koloni untuk mendapatkan koloni tunggal dengan melakukan teknik gores menggunakan jarum ose yang dilakukan di dalam LAFC (*laminar air flow cabinet*) dan ditumbuhkan selama 1-2 hari pada media NA sampai terbentuk koloni tunggal bakteri. Setelah koloni tunggal terbentuk, salah satu koloni tunggal dari masing-masing isolat diambil dengan jarum ose dan disimpan kedalam tabung eppendorf yang berisi gliserol 15% sebagai koleksi isolat.

3.4.5 Uji Antagonisme Koloni Isolat Bakteri terhadap Pertumbuhan Jamur *Colletotrichum gloeosporoides*

Seleksi tahap awal bakteri penghasil biofungisida dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media NA selama 1-2 hari. Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) disiapkan untuk menumbuhkan jamur *Colletotrichum gloeosporoides*. Setelah 2 hari jamur ditumbuhkan dan uji dengan memindahkan bakteri yang telah di tumbuhkan pada media NA dengan cara mengambil koloni bakteri dengan jarum osse dan dipindahkan pada media PDA yang telah tumbuh jamur *Colletotrichum gloeosporoides* berukuran 0,5 cm. Jarak antara jamur dan bakteri tersebut sekitar 3 cm, ditumbuhkan pada suhu kamar dan di amati selama 7 hari. Pengamatan dilakukan untuk melihat kemampuan tumbuh antara jamur dan bakteri tersebut. Di amati setiap hari dan dihitung diameter pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum gloeosporoides*, sampai terlihat adanya pengaruh pertumbuhan jamur yang terhambat oleh bakteri.



Gambar 2. Skema pengujian antagonis koloni bakteri

3.4.6 Pengujian Senyawa Ekstrak Ekstra Seluler dari Bakteri Terpilih

Setelah diperoleh bakteri antagonis yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum gloeosporoides* pada tahap seleksi, dilakukan pengujian lanjut dengan menggunakan ekstrak ekstra seluler dari bakteri terpilih. Kegiatan dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri terpilih dalam media PDB cair yang telah disterilkan. Kultur *dishaker* selama 18 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang. Setelah itu dimasukkan media PDB cair yang telah di-*shaker* kedalam tabung eppendorf sebanyak 2 ml. Lalu disentrifus sebanyak 3x pada suhu 40°C, dengan kecepatan 14000 rpm, selama 30 menit agar menghasilkan supernatan dan

pellet. Selanjutnya supernatan dipindahkan kedalam ependorf dengan pipet 2 ml kemudian disaring dengan menggunakan *sterile syring filter* dengan ukuran 0,02 um.

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Salah satunya dengan metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat dan dimodifikasi dengan pemakaian *cork borer*. Pengamatan dilakukan selama 7 hari dengan mengamati ada tidaknya daya hambat disekitar lubang *cork borer* yang berisi ekstrak bakteri (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Pengujian terhadap ekstrak ekstra seluler bakteri dengan menggunakan medium PDA, dengan menumbuhkan jamur selama 2 hari di tengah medium PDA. Pada media diletakkan *cork borer* sebanyak 4 buah. Kemudian tiap lubang *cork borer* pada medium PDA dimasukkan ekstrak bakteri sebanyak 50 ul. Selanjutnya diinkubasi selama 7 hari, amati pertumbuhan jamur *Colletotricum s*, diukur tiap hari dengan cara mengukur pertumbuhan diameter koloni jamur *Colletotricum sp*. Skema pengujian ekstrak ekstra seluler bakteri dapat dilihat pada Gambar 2 (skema pengujian antagonis koloni bakteri).

3.4.7 Identifikasi Morfologi dan Molekuler Isolat Bakteri Terpilih

3.4.7.1 Identifikasi Morfologi Isolat Bakteri Terpilih

Identifikasi morfologi bakteri dilakukan dengan mengamati morfologi isolat bakteri terpilih yang ditumbuhkan pada media NA. Pengamatan morfologi meliputi : bentuk koloni, warna, bentuk permukaan dan tepian koloni bakteri. Pengamatannya menggunakan kaca pembesar (lup) sebagai alat bantu.

3.4.7.2. Uji Gram Isolat Bakteri Terpilih

Uji gram dilakukan dengan menggunakan kristal violet, dengan cara mengambil koloni bakteri dengan jarum *osse*, kemudian dipindahkan ke *cover glas* lalu diratakan sampai bakteri terlihat kering. Kristal violet diteteskan pada bakteri yang telah di gores dalam cover gelas, Didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Langkah selanjutnya lugol diteteskan pada objek glas yang didiamkan selama 5 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir yang selanjutnya dicuci lagi dengan menggunakan alkohol.

Ditambahkan syafranin dan diamkan selama 5 menit, yang kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop.

3.4.7.3 Identifikasi Molekuler Isolat Terpilih

3.4.7.3.1 Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan dengan cara mengkulturkan koloni bakteri dari hasil seleksi bakteri pada pengujian ekstrak ekstra seluler. Prosedur kerja isolasi DNA bakteri ini berdasarkan metode Jeff Newman (Newman, 1998). Kegiatan awal isolasi DNA bakteri yaitu mengkulturkan koloni bakteri yang dilakukan dengan cara mengambil koloni tunggal bakteri dan dipindahkan kedalam media LB (*Luria Bertani*) menggunakan tusuk gigi. Selanjutnya kultur bakteri kemudian di-*shaker* pada kecepatan 160 rpm selama ± 24 jam (*over night*). Prosedur kerja selanjutnya sebagai berikut : sebanyak 10 ml kultur cair isolat yang telah dibiakkan selama ± 24 jam dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 2 ml, disentrifus selama 30 menit pada kecepatan 14.000 rpm untuk mendapatkan pellet. Pellet diresuspensi dengan 1 x TE (Tris-EDTA) sebanyak 500 μ L. Lalu ditambahkan 50 μ L SDS 10% dan 5 μ L proteinase K (10 mg/mL). Campuran dibolak-balik hingga sempurna dan selanjutnya diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Setelah itu ditambahkan dengan campuran Phenol : Chloroform (PC) (24:24) sebanyak 1 x volume dan disentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan 14.000 rpm. Lalu supernatant (bagian atas) diambil dan ditransfer ke dalam tabung eppendorf 2 ml lain.

Kemudian ditambahkan sekali lagi campuran PC sebanyak volume yang sama dan disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 14.000 rpm. Supernatant diambil dan ditransfer kembali kedalam tabung eppendorf 1,5 ml baru yang steril. Lalu ditambahkan 1/10 volume natrium acetat 3 M serta ditambahkan juga 0,6 volume isopropanol dingin dan diaduk dengan cara membolak-balik tabung sampai DNA terpresipitasi. Selanjutnya disentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 14.000 rpm. Pellet DNA tersebut dicuci dengan ethanol 70% dingin sebanyak 1 ml selama 30 detik dan dikeringkan dengan menggunakan *heater block* pada suhu 55°C selama 5 menit. Setelah itu pellet DNA disuspensikan

dengan buffer 1 x TE sebanyak 100 μ l, kemudian dianalisis kualitas dan kuantitasnya dengan menggunakan teknik elektrophoresis.

3.4.7.3.2 Analisis Kualitas dan Kuantitas DNA

Larutan DNA yang diperoleh dari hasil isolasi DNA dipersiapkan untuk analisis kualitas dan kuantitas menggunakan teknik elektrophoresis. Gel agarose dengan konsentrasi 1 % digunakan sebagai matriks untuk analisis ini. Gel agarose yang masih mencair ditambah dengan senyawa ethidium bromide (5 mg/ml) dan dibiarkan mengeras di dalam lemari asam. Larutan sumur gel yang lain disertakan pula DNA- λ dengan konsentrasi yang telah diketahui (25 ng/ μ l) dan digunakan sebagai acuan penentuan konsentrasi. Elektrophoresis dirunning pada tegangan 100 V selama 1 jam menggunakan buffer 0,5x TBE (Tris-Boric-EDTA). Setelah selesai, gel dipapari dengan sinar UV dibawah perangkat dokumentasi (Gel-Doc) (Biometra-Jerman). Data visualisasi disimpan dalam bentuk data digital dan digunakan untuk analisis kualitas dan kuantitas DNA. DNA yang diperoleh selanjutnya diencerkan sampai konsentrasi 5 ng/ μ l yang akan digunakan sebagai larutan kerja. Sisa larutan DNA digunakan sebagai larutan stok cadangan pada analisis selanjutnya.

3.4.7.3.3 Amplifikasi Gen 16S rRNA

DNA hasil isolasi diamplifikasi dengan menggunakan kombinasi primer yang didesain dari sekuen gen 16SrRNA. Kombinasi primer yang digunakan adalah 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan 1525R (5'-AAGGAGGTGWTCCARCC-3'). Amplifikasi dengan primer ini diperkirakan menghasilkan produk PCR sekitar 1500 bp. Reaksi PCR dilakukan pada total volume 25 μ l yang terdiri dari 2 μ l DNA template, 2 μ l kombinasi masing-masing primer 27F dan 1525R (5pmol/ μ l), 21 μ l ddH₂O PCR dalam RTG – PCR Bead. Kondisi PCR yang digunakan adalah : denaturasi (94⁰C) selama 1 menit, annealing pada suhu 57⁰C selama 1 menit, ekstensi selama 1 menit pada suhu 72⁰C. Ekstensi tambahan dilakukan pada suhu 72⁰C selama 5 menit. Hasil amplifikasi disimpan pada suhu 4⁰C sebelum digunakan. Untuk mengontrol keberhasilan reaksi amplifikasi produk PCR sebanyak 5 μ l kemudian

dielektrophoresis pada gel agarose dengan konsentrasi 1% dalam buffer 0,5x TBE pada tegangan 100 V (Maniatis et al., 1989). Visualisasi menggunakan UV-transiluminator setelah diberi pewarnaan ethidium bromide dan didokumentasikan kedalam data digital dalam format jpeg. Sisa produk PCR sebanyak 20 µl disimpan pada suhu -20°C untuk keperluan analisa sekuens.

3.4.7.3.4 Analisis Sekuens Gen 16S rRNA

Sekuensing dilakukan di Laboratorium sentral UNAND. Sekuensing dilakukan secara satu arah (*one read direction*) menggunakan primer 1525R. Untuk keperluan sekuensing digunakan 20 µl produk PCR dengan konsentrasi masing-masing 25 mg/ µl, sedangkan primer yang digunakan adalah 1525R dengan konsentrasi sebanyak 5 pmol/ µl dengan volume sebanyak 10 µl.

3.4.7.3.5 Analisis Data

Analisis dilakukan pada hasil elektrophoresis isolasi DNA, produk PCR dan data sekuensing DNA bakteri dengan primer 16S rRNA. Hasil sekuensing dilakukan untuk analisis spesies bakteri dengan membandingkan sekuens yang diperoleh dengan sekuens-sekuens gen yang telah didepositkan kedalam data base publik secara *in-silico* menggunakan program BLAST yang dilakukan secara *online* pada website NCBI (*National Centre of Biotechnology Information*): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri

Pengambilan sampel dilakukan di daerah Alahan Panjang Kabupaten Solok yang secara geografis terletak pada 01⁰ 20' 20" dan 01⁰ 2' 39" LS dan 100⁰ 25' 60" dan 100⁰ 33' 43" BT, dengan ketinggian antara 329 meter – 1458 mdpl. Pada tahap awal isolasi bakteri dilakukan pengenceran sampai 10⁻⁷ hingga diperoleh koloni tunggal bakteri. Koloni tunggal tersebut kemudian diseleksi berdasarkan bentuk, warna, dan bentuk tepian. Dari seluruh sampel yang diambil di tiga tempat diperoleh 120 isolat (Tabel 1)

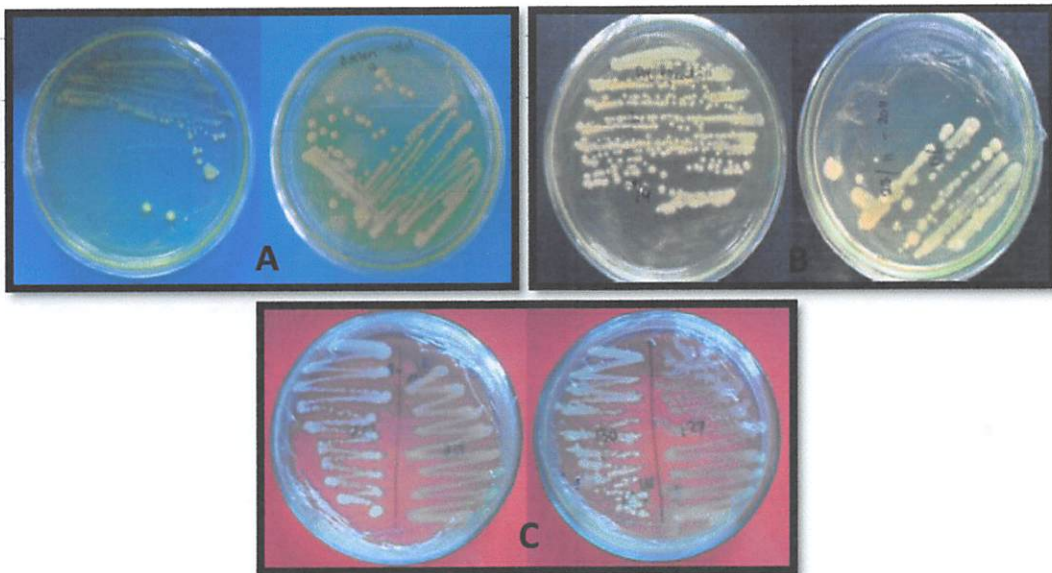
Tabel 1. Jumlah isolat hasil isolasi bakteri dari 3 lokasi pengambilan sampel

Tempat pengambilan sampel	Jumlah isolat hasil isolasi bakteri
Kecamatan Gunung Talang	32 Isolat
Kecamatan Aia Batumbuak	33 Isolat
Kecamatan Danau Kembar	55 Isolat
Jumlah	120 isolat

Tabel 1 menunjukkan jumlah total isolat yang diperoleh dari 3 lokasi pengambilan sampel, yakni sebanyak 120 isolat. Pada Kecamatan Gunung Talang diperoleh 32 isolat, pada Kecamatan Aia Batumbuak diperoleh 33 isolat dan pada Kecamatan Danau Kembar diperoleh 55 isolat. Setiap isolat memiliki cirri-ciri yang berbeda-beda, data pengamatan terhadap 120 isolat tersebut dapat dilihat pada Lampiran 3.

Dari hasil isolasi bakteri yang didapatkan, ada 23 isolat yang tidak tumbuh setelah di simpan pada gliserol 15% (Lampiran 3). Semua isolat yang tumbuh dilakukan pengamatan morfologi, terlihat bentuk koloni tunggal hasil isolasi bakteri dari ketiga lokasi pengambilan sampel di daerah Alahan Panjang mempunyai bentuk

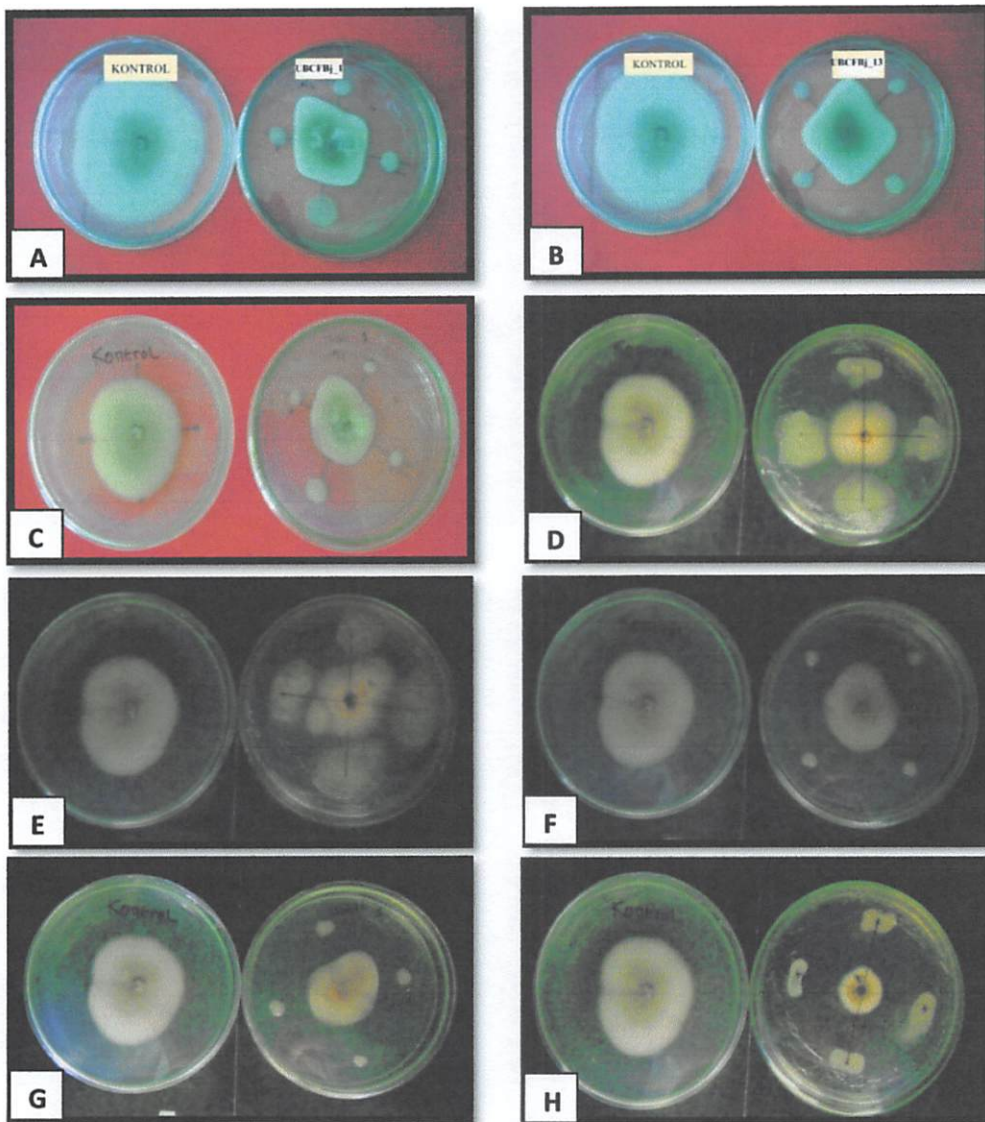
morfologi yang berbeda. Pada Kecamatan Gunung Talang didominasi dengan koloni bakteri yang berbentuk bundar, dengan warna putih dan krem. Pada Kecamatan Aia Batumbuak bentuk koloni bundar dan warna bakteri didominasi dengan krem. Pada Kecamatan Danau Kembar koloni berbentuk bundar dan warna bakteri didominasi dengan koloni berwarna putih. Gambar hasil isolasi bakteri pada tiga lokasi berbeda dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Beberapa isolat hasil isolasi bakteri dari tiga lokasi pengambilan sampel
A. Kecamatan Gunung Talang B. Kecamatan Aia Batumbuak
C. Kecamatan Danau Kembar

4.2 Uji Antagonisme Koloni Isolat Bakteri Terhadap Pertumbuhan Jamur *Colletotrichum gloeosporioides*

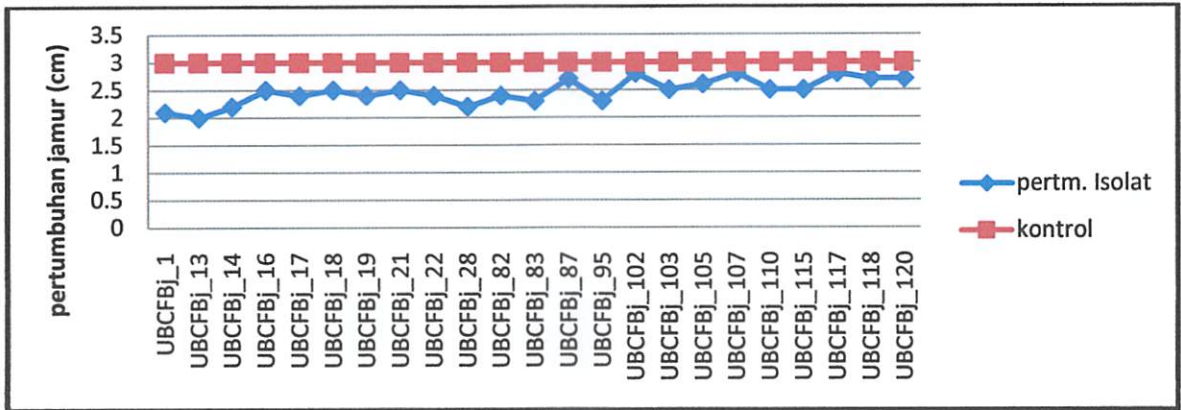
Untuk melihat kemampuan antagonisme bakteri terhadap jamur *C. gloeosporioides* dilakukan pengujian koloni secara *in vitro*. Hasil pengamatan bakteri yang memiliki kemampuan antagonisme tinggi terhadap penekanan pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* sebanyak 23 isolat. Aktivitas penghambatannya dapat terlihat dengan adanya jarak tumbuh dari jamur *C. gloeosporioides* dan bakteri yang diuji. Jarak tersebut berkisar antara 1 – 1,5 cm. Terlihat pertumbuhan jamur tertekan yang dibandingkan dengan pertumbuhan kontrol (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil uji antagonisme bakteri terhadap jamur *C.gloeosporioides*; (A) isolat bakteri UBCFBj_1 (B) isolat bakteri UBCFBj_13 (C) isolat bakteri UBCFBj_17 (D) isolat bakteri UBCFBj_21 (E) isolat bakteri UBCFBj_18 (F) isolat bakteri UBCFBj_16 (G) isolat bakteri UBCFBj_22 (H) isolat bakteri UBCFBj_14

Gambar 4 melihatkan pertumbuhan diameter jamur *C. gloeosporioides* terhambat oleh bakteri antagonis yang dibandingkan dengan pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* pada kontrol (data pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* terdapat pada Lampiran 4). Perbandingan pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* pada hari

ke-7 dengan pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* kontrol dapat dilihat pada Gambar 5.



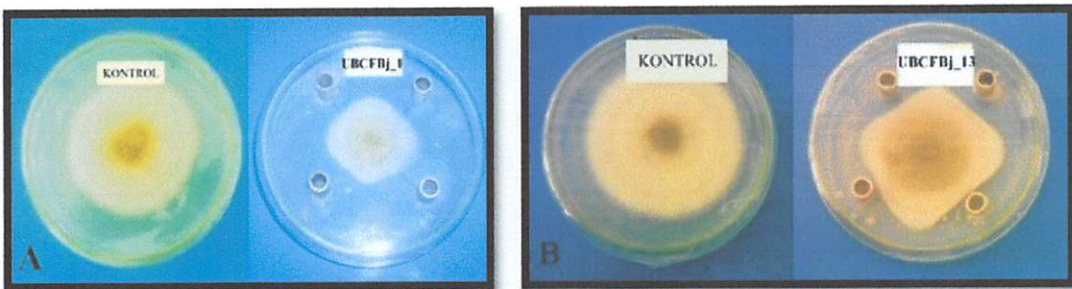
Gambar 5. Pertumbuhan diameter jamur *C. gloeosporioides* pada hari ke-7 yang di bandingkan dengan pertumbuhan kontrol.

Gambar 5 memperlihatkan sampai pada hari terakhir pengamatan, pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* tidak ada yang melebihi pertumbuhan jamur kontrol. Dari 23 isolat yang diuji terlihat 2 isolat bakteri yang paling kuat dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*, yaitu UBCFBj_1 dan UBCFBj_13. Terlihat pertumbuhan diameter jamur *C. gloeosporioides* paling kecil. Hal ini diduga karena bakteri memiliki kemampuan antagonisme yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Beberapa mikroba seperti jamur dan bakteri banyak digunakan sebagai agen antagonis, mikroba ini dapat menekan perkembangan patogen atau penyakit dengan mekanisme kompetisi terhadap nutrisi atau ruang (bersaing untuk mendapatkan makanan atau tempat), antibiosis (memproduksi antibiosis), dan parasitisme (berperan sebagai parasit) (Mukerji & Garg 1988).

Selanjutnya dilakukan pengujian ekstrak ekstra seluler yang menunjukkan aktifitas kemampuan bakteri dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*.

4.3 Pengujian Senyawa Ekstrak Ekstra Seluler dari Bakteri Terpilih

Pengujian ekstrak ekstra seluler dari bakteri yang paling berpotensi menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* yakni 2 isolat. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan dari ekstrak ekstra seluler bakteri untuk menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*. Pengamatan dilakukan setelah ekstrak ekstraseluler yang dikulturkan, dipindah pada media PDA yang telah ada jamur *C. gloeosporioides* berumur 2 hari. Dari hasil pengujian ekstrak ekstraseluler bakteri yang dimasukkan dalam perlakuan *cork borer* teridentifikasi beberapa isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*. Pertumbuhan jamur terlihat tertekan dibandingkan dengan pertumbuhan jamur sebagai kontrol (Gambar 6).



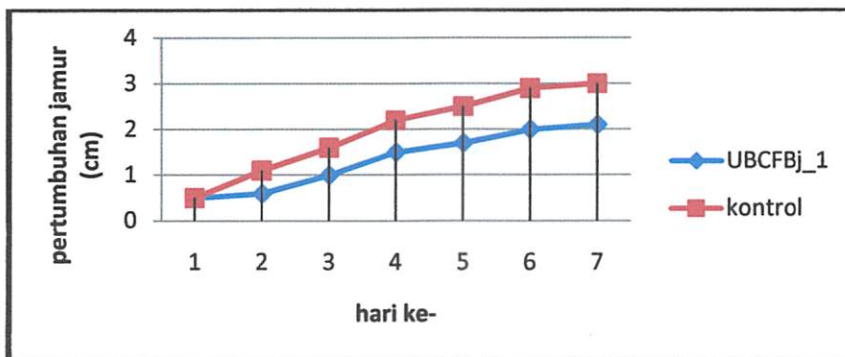
Gambar 6. Pengujian ekstrak ekstraseluler bakteri yang menghambat pertumbuhan jamur (A) isolat UBCFBj_1 dan kontrol; (B) isolat UBCFBj_13 dan kontrol

Gambar 6 memperlihatkan pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* tertekan pertumbuhannya oleh senyawa ekstrak ekstra seluler yang dihasilkan oleh bakteri. Pengamatan pengujian ekstrak ekstra seluler bakteri dihitung setiap hari yang dibandingkan dengan pertumbuhan jamur kontrol. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan jamur diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007). Data pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* pada uji antagonisme ekstra ekstraseluler isolat bakteri terpilih yang diamati setiap hari sampai dengan hari ke 7 yang disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Data pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* pada pengujian ekstra ekstraseluler bakteri isolat UBCFBj_1

Kode Isolat	Diameter koloni jamur (cm)						
	1	2	3	4	5	6	7
UBCFBj_1	0,5	0,6	1	1,5	1,7	2	2,1
KONTROL	0,5	1,1	1,6	2,2	2,5	2,9	3

Pada isolat UBCFBj_1 hari pertama belum terlihat penekanan terhadap pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*. Pada hari kedua sudah terlihat penekanan pada pertumbuhan jamur sampai hari ke 7 yang diberi perlakuan ekstrak ekstraseluler bakteri. Hal ini diduga karena senyawa ekstrak ekstraseluler mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*. Perbandingan pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* dengan pertumbuhan jamur kontrol secara jelas terlihat pada Gambar 7.

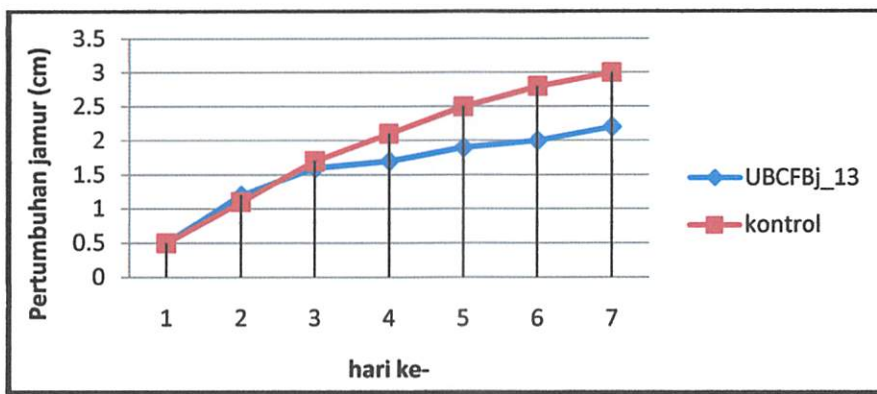


Gambar 7. Pertumbuhan diameter jamur *C. gloeosporioides* selama 7 hari yang di inokulasi pada media PDA yang diberikan ekstrak ekstraseluler bakteri.

Tabel 3. Data pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* pada pengujian ekstra ekstraseluler bakteri UBCFBj_13

Kode Isolat	Diameter koloni jamur (cm)						
	1	2	3	4	5	6	7
UBCFBj_13	0,5	1,2	1,6	1,7	1,9	2	2,2
KONTROL	0,5	1,1	1,7	2,1	2,4	2,8	3

Tabel 3 memperlihatkan isolat UBCFBj_13 hari pertama belum terlihat penekanan terhadap pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides*. Pada hari kedua masih belum terlihat penekanan pada pertumbuhan jamur yang diberi perlakuan ekstrak ekstra seluler bakteri, Terlihat diameter jamur hari ke 2 lebih besar dari pada pertumbuhan jamur kontrol. Penekanan baru terlihat pada hari ke 3 sampai hari ke 7 yang dibandingkan dengan pertumbuhan jamur kontrol yang dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Pertumbuhan diameter jamur *C. gloeosporioides* selama 7 hari yang di inokulasi pada media PDA yang diberikan ekstrak ekstraseluler bakteri.

Gambar 8 memperlihatkan bahwa pertumbuhan jamur tidak langsung terhambat oleh ekstrak ekstrakseluler bakteri. Hal ini diduga karena senyawa ekstrak ekstraseluler bakteri belum mampu menghambat pertumbuhan jamur *C.gloeosporioides*.

4.4 Identifikasi Morfologi Bakteri

Identifikasi merupakan tahap utama dalam kegiatan klasifikasi atau taksonomi. Salah satu tahapan utama untuk identifikasi mikroba yaitu dengan mengamati ciri-ciri morfologinya. Kegiatan identifikasi morfologi dilakukan terhadap 2 isolat bakteri terpilih, meliputi pengamatan bentuk, warna, tepian, elevasi bakteri UBCFBj_1 dan UBCFBj_13.

Tabel 4. Hasil pengamatan koloni dari isolat bakteri terpilih.

Isolat	Pengamatan Koloni				Prediksi Genus
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	
UBCFBj_1	Bundar	Putih	Entire(datar)	Cembung	<i>Bacillus.sp</i>
UBCFBj_13	Bundar	Krem	Entire(datar)	Cembung	<i>Bacillus.sp</i>

Tabel 4 menunjukkan bahwa bentuk koloni bakteri terpilih adalah berbentuk bundar (*circular*). Koloni bakteri *circular* memiliki bentuk koloni bulat yang hidupnya di atas permukaan media padat (Jutano, 1980).

Warna koloni bakteri dikelompokkan menjadi 4 yaitu krem kemerahan, krem, putih susu, dan putih keabu-abuan. Dari empat kelompok tersebut isolat UBCFBj_1 berwarna putih dan isolat UBCFBj_13 koloni berwarna krem. Warna koloni bakteri dapat mengalami perubahan bila media tumbuh yang digunakan berbeda, dan kondisi lingkungan seperti suhu juga dapat mempengaruhi perubahan warna dari koloni bakteri (Wikipedia, 2011).

Bentuk tepian bakteri dikelompokkan menjadi 3 yaitu *lobate*, *entire*, *serate*. Isolat UBCFBj_1 dan UBCFBj_13 berbentuk tepian koloni *entire*. Tepian koloni *entire* adalah tepian koloni yang permukaannya datar, bentuk tepian koloni ini dapat berubah jika media yang digunakan lebih selektif. Sedangkan tepian koloni *serrate* merupakan tepian koloni bergerigi, dan tepian koloni *lobate* merupakan tepian koloni bergelombang (Pradhika, 2010).

Elevasi koloni bakteri dapat dikelompokkan menjadi 4 yaitu *umbonate*, *low convex*, *flat*, *raiset*. Hasil identifikasi isolat UBCFBj_1 dan UBCFBj_13 dengan elevasi *umbonate* yaitu elevasi bakteri yang agak berbukit, *low* adalah elevasi agak cembung, *flat* adalah pertumbuhan elevasi bakteri yang tipis (Dwisriwulandari 2010).

Beberapa golongan bakteri yang banyak dilaporkan adalah dari genus *Pseudomonas*, *Xantromonas*, *Acidothermus*, *Bacillus*, *Cellulonas*, *Cellvibrio*, *Cytophaga*, dan *Lactobacillus* (Wizna ,2007). Kesimpulan sementara kedua isolat terpilih dengan melihat ciri – ciri morfologi yaitu warna koloni putih susu dan agak

krem, bentuk koloni bulat tak beraturan, merupakan ciri –ciri bakteri yang mendekati genus *Bacillus*.

Menurut Goto (1992), bakteri yang memiliki sifat antagonis terhadap patogen dan berpotensi sebagai agens pengendali hayati meliputi : *Agrobacterium*, *Aerobacter*, *Bacillus*, *Erwina*, *Flavobacterium*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, dan *Sterptomyces*. Kelompok bakteri yang banyak diteliti dan digunakan untuk agen pengendalian hayati adalah genus *Bacillus* diantaranya *B. polimyxa*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*. (Balai Penelitian Tanaman Hias, 2005)

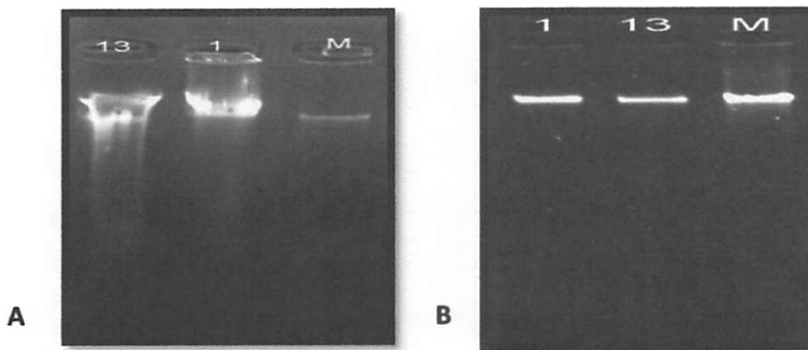
Menurut Todar (2005), *Bacillus* merupakan salah satu bakteri penghasil antibiotik diantaranya *polymixin*, *dificidin*, *sublitin*, dan *mycobacilin*, yang mempunyai aktifitas fungisida dan digunakan sebagai agen kontrol biologis.

4.5 Hasil Uji Gram Bakteri Terpilih

Berdasarkan isolasi uji gram bakteri UBCFBj_1 dan UBCFBj_13 tergolong kedalam bakteri gram negatif (-). Terlihat pada hasil pengamatan pada mikroskop bakteri UBCFBj_1 dan UBCFBj_13 berbentuk basil dan berwarna merah. Disebabkan organisme yang kehilangan kompleks warna ungu kristal pada waktu pembilasan dengan alkohol namun kemudian terwarnai oleh pewarna safranin (sel tampak merah muda).

4.6 Isolasi DNA bakteri

Isolasi DNA genomik bakteri dilakukan terhadap isolat-isolat UBCFBj_1 dan UBCFBj_13 hasil seleksi pengujian ekstrak ekstraseluler. Prosedur kerja isolasi DNA dapat dilihat pada bahan dan metode. DNA hasil isolasi dicek menggunakan teknik elektroforesis dengan melarutkan serbuk gel agarose 1% dalam buffer TBE (Tris Boric-EDTA) dengan pewarna etidium bromide. Hasil elektroforesis diamati dengan menggunakan *UV-transilluminator*. Sebagai pembanding digunakan λ DNA dengan konsentrasi 50 ng/ul. Konsentrasi DNA diperkirakan dengan cara membandingkan tingkat perpendaran pita DNA dengan marker yang digunakan, hasil isolasi terlihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Visualisasi hasil isolasi DNA bakteri terpilih. Gambar A merupakan hasil dari isolasi DNA sebelum purifikasi, dan Gambar B merupakan hasil purifikasi hasil DNA. M = λ DNA 50 ng/ul, 1 = UBCFBj_1 ; 2 = UBCFBj_13.

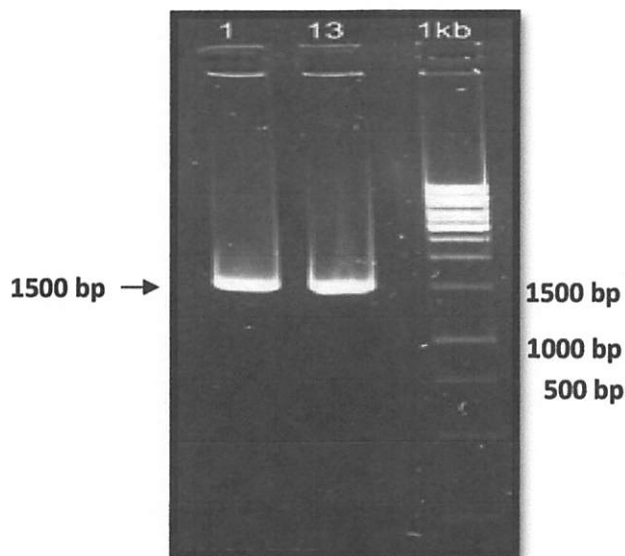
Gambar 9 (A) merupakan hasil visualisasi hasil elektroforesis dari DNA yang diisolasi. Terlihat adanya perbedaan intensitas pita DNA yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena efisiensi lisis sel di dalam kelompok mikroba sangat bervariasi. Hasil isolasi DNA jelas dibandingkan dengan marker DNA λ (konsentrasi 50 ng/ul) keduanya yakni sampel UBCFBj_1 dan UBCFBj_13 memperlihatkan intensitas 3x λ DNA yaitu 150 ng/ul.

Meskipun kualitas DNA hasil isolasi bakteri terlihat sudah bagus, namun masih ditemukan adanya fragmen *smear* di bawah fragmen utama kedua isolat hasil isolasi. Munculnya fragmen *smear* kemungkinan disebabkan karena aktifnya enzim DNase yang mengakibatkan terpotong-potongnya DNA ke dalam ukuran yang kecil-kecil. Menurut Syafaruddin dan Santoso (2011), DNA yang utuh ditandai dengan tidak adanya *smear* DNA yang dielektroforesis. Hal ini menjadi penting karena pada proses isolasi, DNA yang masih utuh akan lebih memberikan hasil yang relatif lebih akurat. Untuk itu dilakukan pemurnian atau purifikasi DNA, lebih lanjut hasil purifikasi dapat dilihat pada Gambar 9 (B).

4.7 Amplifikasi Sekuens Gen Pengkode 16S-rRNA

Teknik PCR merupakan teknik untuk keperluan amplifikasi DNA secara *in-vitro*. Amplifikasi DNA secara *invitro* dengan PCR terdiri atas beberapa siklus, yaitu denaturasi, annealing, extension. Kegiatan amplifikasi dilakukan dengan menggunakan kombinasi primer 27F dan 1525R dari sekuens gen 16S-rRNA. Teknik PCR gen 16S-rRNA dikembangkan untuk mengetahui keragaman bakteri dengan cara mengamplifikasi gen 16S-rRNA. Penggunaan kombinasi primer tersebut diharapkan menghasilkan fragmen produk PCR dengan ukuran sekitar 1500 bp. Prosedur lengkap dan komponen pada reaksi amplifikasi dapat dilihat pada bahan dan metode (sub bab 3.4.7.2.3).

Visualisasi hasil reaksi PCR menggunakan teknik elektroforesis pada gel agarose 1% dilihat pada Gambar 10. Menunjukkan bahwa kegiatan amplifikasi yang dilakukan telah berhasil mengamplifikasi daerah gen 16S-rRNA bakteri terpilih. Hal ini terlihat dari dihasilkannya fragmen produk PCR dengan ukuran 1500 bp.



Gambar 10. Visualisasi hasil amplifikasi DNA bakteri dengan primer spesifik 27F dan 1525R. 1kb = 1kb ladder, 1 = UBCFBj_1 ; 2 = UBCFBj_13.

Keberhasilan teknik PCR lebih didasarkan kepada kesesuaian primer beserta efisiensi dan optimasi proses PCR. Hasil produk menunjukkan bahwa ukuran fragmen yang dihasilkan seluruhnya memiliki ukuran yang sama yakni 1500 bp. Gen 16S-rRNA memiliki ukuran cukup besar untuk memberikan perbedaan dan pengukuran yang valid secara statistik, yaitu 1550 bp (Clarridge, 2004).

Gen 16S-rRNA mempunyai beberapa urutan yang lengkap dan beberapa urutan yang bervariasi pada eubakteria, sehingga urutan nukleotida gen 16S rRNA dapat digunakan untuk identifikasi bakteri (Hartati *et al.*, 2007).

4.8 Analisis Sekuens Gen 16S-rRNA Bakteri Terpilih

Langkah selanjutnya untuk menentukan variasi dan kekerabatan genetik bakteri dilakukan analisis sekuensing pada 2 isolat hasil amplifikasi. Analisis dengan teknik tersebut dianggap paling teliti dan akurat dalam menentukan keragaman genetik yang terdapat pada organisme prokaryot, dibandingkan dengan analisis molekuler berbasis PCR-RAPD yang informasinya sering tidak konsisten (Hidayat *et al.*, 2004).

Sampel yang disekuensing adalah 2 isolat bakteri UBCFBj_1 an UBCFBj_13 yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan jamur terbaik. Sekuensing gen 16S rRNA dilakukan di Laboratorium Sentral Unand. Sekuensing dilakukan secara *one read direction*) menggunakan primer 1525R (5'-AAGGsAGGTGWTCCARCC-3'). Hasil yang diperoleh berupa grafik electrophoregram dengan *peak-peak* yang berwarna-warni untuk membedakan jenis basa nitrogen (nukleotida) yang dicirikan. Nukleotida A berwarna hijau, nukleotida G berwarna hitam, nukleotida C berwarna biru, dan nukleotida T berwarna merah. Pola warna sekuen yang sama juga disampaikan oleh Ratnayani *et al.*, (2007).

Data hasil sekuensing yang diperoleh dari 2 sampel dilakukan pengeditan menggunakan bantuan paket software dan dikontrol secara manual. Dari sampel yang dianalisis, sampel UBCFBj_1 menghasilkan data sekuens DNA sepanjang 205 bp dan UBCFBj_13 menghasilkan data sekuens DNA sepanjang 555 bp, selanjutnya

dilakukan analisis dengan program BLAST. Hasil dari identifikasi sekuen DNA berdasarkan urutan nukleotidanya melalui proses sekuensing dapat dilihat pada Gambar 11.

<p style="text-align: center;">Sampel UBCFBj_1</p> <p>TCTCTCGCCACGACCAGACCTCTGTGTCGCGAAGGTGGCGCGC GCCCCTCCTCCCTCTTCGCGCGACACACAGCTGCTCCCACCGCATCTT CTGTATATCCCCCTGTAGTATTGTAGTGCGAGTGTCATCGCCGTGCGT GTTCCCTGGCCCACTTATCTCTCCCCACACACCTGTACGCGACACCCG CCACGTACTTCTGGTATC</p> <p style="text-align: center;">Sampel UBCFBj_13</p> <p>TGAAAAGGTCGCTATTAGCCACGGGCTATTGCACATCAATTAG ACGCTCACGCAGTAGCTGTGCTGTATATACCAGAGCAGCGATATGTA GCAGGTCGCGTTGTCAGATCAGGCTACATACGCTACTAAGTGTAGTC TCCTAGATCCTCTAGAGCTTCAATCGATATTAGCGGTATTTGTGACTA CACCTACCCATGCATATATGCTATTAGACTTGCATGCACGGGGGTCG TGGTGTTGATACTTCGGAACCGTGGGAGTGGTGATCTCACGCGTTAT CACATTGCATTGTACTACATACGATATTTATATCGGTATGGGCGTTAT TTTTGC GCGGGGATCGCTTTTAGATAGTGCGGTGATGGGTTTCGTTAA TGTNTATGGGGGCAATGTATCGTTGGCGATTATTGCACGGGGTATCA TAGGGGATCGGTACCGTTTATTGATGCGTTGCGATTATGATTGGTGC GACGGAGTNAGAGGTCAATTCATATATTGATGTTTTATTTAGCGGGT CNGCTAGTTTGTGTTTTAAGGGGCGATTTCGGGTTTTG</p>
--

Gambar 11. Sekuens isolat bakteri terpilih setelah dilakukan pengeditan dengan hasil urutan nukleotida.

4.9 Analisis BLAST Sekuens DNA Bakteri Terpilih

Analisis BLAST dilakukan dengan tujuan untuk membandingkan data sekuens yang dimiliki dengan sekuens-sekuens DNA berbagai organisme dari seluruh penjuru dunia terutama bakteri yang didepositkan pada database (*gene bank*) sekuens publik. Untuk keperluan tersebut maka analisis BLAST dilakukan secara *online* pada website NCBI (*National Centre of Biotechnology information*): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>. Adapun hasil yang diperoleh dari 2 koleksi bakteri UBCFBj_1 dan UBCFBj_13 berdasarkan analisis BLAST dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis BLAST dari isolat bakteri UBCFBj_1 dan UBCFBj_13.

NO	Kode Isolat	Kemungkinan spesies	Kode akses	Max ident
1.	UBCFBj_1	Parachlamydia-related symbiont UWE25, complete genome	<u>BX908798.1</u>	100%
2.	UBCFBj_13	<i>Bacillus cellulosilyticus</i> , complete genome	<u>CP002394.1</u>	91%

Ket : Kode akses merupakan kode akses databank yang dibandingkan. Max ident adalah informasi level kesamaan antara sekuens sampel dengan sekuens pada kode akses yang disebutkan.

Hasil identifikasi analisis BLAST secara umum menunjukkan isolasi bakteri UBCFBj_1 kemungkinan spesies tergolong kedalam Parachlamydia-related symbiont UWE25, complete genome. Dengan level kesamaan antara sekuens dengan kode akses BX908798.1 sebesar 100%, sedangkan Isolat UBCFBj_13 memiliki informasi level kesamaan antara sekuens sampel dengan sekuens pada kode akses CP002394.1 sebesar 91%. Selanjutnya dibandingkan dengan hasil pengamatan morfologi dari isolat yang merupakan hasil BLAST tergolong pada genus *Bacillus* memang memiliki kemiripan.

Yusuf (2000) melaporkan bahwa bakteri *Bacillus* pada pembiakan dalam media NA (*Nutrient Agar*) berwarna putih berkilat sampai agak krem, bentuk bulat, oval sampai tidak beraturan, permukaan koloni datar di permukaan medium.

Bakteri yang mendekati genus *Bacillus* mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut; warna koloni putih susu atau agak krem, bentuk koloni bulat dengan tepian beriput. Sel nya berbentuk batang dan lurus berukuran 0,5-2,5 x 1,2-10 μm , dan sering tersusun dalam bentuk sepasang atau rantai, dengan ujung bundar atau empat persegi (Feliatra *et al.*, 2004).

Hasil analisis BLAST cukup didukung dengan data yang diperoleh dari identifikasi morfologi dan pendugaan genus yang ada pada Tabel 3, dimana isolat-isolat yang menunjukkan kemiripan dengan genus *Bacillus* ini mempunyai ciri-ciri

yang sesuai dengan ciri-ciri bakteri dari genus *Bacillus*, yakni koloni berbentuk bulat oval sampai tidak beraturan, warna koloni putih susu atau agak krem, elevasi cembung dengan tepian licin.

Hasil identifikasi terdapat sedikit perbedaan data dari hasil pengamatan dengan data yang terdapat pada literatur, misalnya dari data penelitian didapatkan bahwa bakteri genus *Bacillus* memiliki ciri-ciri koloni yang tepian datar, akan tetapi dari literatur diperoleh data yang menyatakan bahwa tepian koloni bakteri dari genus *Bacillus* adalah keriput. Namun, perbedaan tersebut tidak terlalu berpengaruh terhadap hasil identifikasi, karena morfologi koloni bakteri dari satu genus tidak selalu sama dan tergantung kepada spesies (Huda, 2010).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Diperoleh 2 isolat bakteri dengan kemampuan ekstrak ekstra selulernya yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum gloeosporioides*.
2. Dari hasil analisis BLAST isolat bakteri UBCFBj_1 dikelompokkan ke dalam Parachlamydia-related symbiont UWE25, complete genome dan isolat bakteri UBCFBj_13 dikelompokkan kedalam bakteri spesies *Basillus cellulosilyticus*.

5.2 Saran

Untuk memperoleh informasi identitas dan kekerabatan genetik suatu organisme yang lebih akurat, maka dalam analisis BLAST menggunakan data sekuens yang lebih panjang, sehingga dapat di peroleh informasi yang lebih akurat dan tepat. Keadaan ini dapat di atasi dengan menggunakan sekuensing secara dua arah, menggunakan kedua primer (27F dan 1525R) hingga data sekuens yang di peroleh akan lebih panjang dan informasinya lebih akurat dan lebih jelas.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2008. *Fusarium*. <http://indonesiachili.com/pest.htm>. [06 November 2009].
- Badan Pusat Statistik, 2010. Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Cabai tahun 2009. <http://www.bps.go.id>. [28 september 2010].
- Balai Penelitian Tanaman Hias, 2005. Mikroba Antagonis sebagai Agen Pengendalian Penyakit Tanaman. <http://Pustaka.litbag.deptan.go.id/publikasi/wr262044.pdf> [10 mai 2012].
- Cambell. D, dan R. White J. 1989. Polymer Characterization Physical technigues. New York. Mc grow hill.
- Clarridge III, J.E. 2004. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases, *Clin.Microbiol.Rev.*, 17 (4): 840-862.
- CLUSTALW 1.83.2009. <http://www.Genebee.msu.su/clustal/advanced.html>.
- Dwisriwulandari. 2010. Struktur, perkembangbiakan, bentuk, dan manfaat bakteri. <http://dwisriwulandari.student.umm.ac.id>. [10 maret 2010]
- Fock I. C. Colloner, A. Purwito, J. Luisetti, V. Souvannavong, F. Vedel, A. Servaes, A. Ambroise, H. Kodja. Duscreux, D. Sihachark. 2000.. Resistance to bacterial wilt in somatic hybrids between. *Solanum tuberosum* and *Solanum mphureja*. Plant Sci. 160:165-176.
- Goto, M. 1992. *Fundamental of Bacterial Plant Pathology*. Academic Press. Inc, London.
- Gunawan, 2005. Uji Efektifitas Biofungisida sebagai Pengendali Biologi terhadap Penyakit Antagonis pada Tanaman Cabai merah. J. Holtikultura. 15 (4); 297-302.
- Habazar, T. dan F, Rivai. 2000. A study of inducid sistemik resisten of soybean to bakterial pustule by the rootcolonizing fluresend Psedomonas, Bogor.
- Habazar Trimurti, 2006. Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan . Universitas Andalas. Padang
- Hartati, D. et. al. (2007). Pendukung Keragaman Genetik didalam dan Antar Provenan Pulai (*Alstonia Scholaris*(L) R. Br). Menggunakan Peananda RAPD “ *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan* 1, (2).
- Hendrosudaryono, 1999. Kunci Bercocok Tanam Sayuran Penting di Indonesia. 64hal.

- Hersanti, Ling, F., dan I, Zulkarnaen. 2001. Pengujian Campuran Senyawa benzothiadiazole 1%-mancozeb 48% Dalam Meningkatkan Ketahanan Cabai Merah Terhadap Penyakit Antraknosa. Prosiding Kongres Nasional XVI dan Seminar Ilmiah , Bogor, 22-24 Agustus 2001. Perhimpunan Pitopatologi Indonesia. 160,162.
- Hidayat, P., S, Dewi., H., Sri. 2004. Kajian Ciri Morfologi dan Molekuler Kutu kebulSebagai Dasar Pengendalian Penyakit Gemini Virus pada Tanaman Sayuran. Jurnal lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat. Institut Pertanian Bogor.
- Hoelze, A.R. dan A, Green. 1992. Analysis of population-level variation by sequencing PCR-amplifikasi DNA. In Hoelzel. A.R. (Ed.). Molecular Genetic Analysis of Populasi A practical Approach. New york. Oxford University Press: 159-186.
- Huda, Benni Ismul. 2010. Koleksi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Kawah Gunung Merapi Berdasarkan Analis Sekuens Gen Pengkode 16S rRNA. Padang. Universitas Andalas [skripsi].
- NCBI. 2009. http://www.ncbi.nlm.gov/about/image/splash_r9-C2.gif.
- Jamsari. 2007. Bioteknologi Pemulia, Prinsip Dasar dan Aplikasi Analisis Molekuler. Unri Press.193 hal.
- Jutono. 1980. Mikrobiologi Umum. Yogyakarta. UGM. 177 hal.
- Kardinan. 2002. Pestisida Nabati Ramuan dan Aplikasi. Jakarta: Penebar Swadaya
- Kim K. D. B. J oh, J. Yang. 1999. Differential Interaction of a *Colletrotichum gleosporoides* Isolat with Green end red pepper fruits. Phytoparostica 27 (2); 1-10.
- Kusmayati dan Agustini, N. W. R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1) : 48-53.
- Mukerji, KG and KL Garg 1988 Biocontrol of Plant Diseases, volume 1 CRC Press. Florida, 159 p.
- Novizam, 2002. *Hama dan Penyakit Tanaman*.
novizam.blogspot.com/2002/10/hama-dan-penyakit-tanaman.html.
[Februari 2011].
- Pracaya. 2000. Bertanam Lombok. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 68 hal.
- Pradika. 2010. Pentingnya pengamatan morfologi koloni di cawan.
<http://ekmonsaurus.blogspot.com/2009/05/pentingnya-penggambaran-morfologi.html>. [16 mei 2010]

- Prajnanta, F. 2008. Agribisnis Cabai Hibrida. Edisi Revisi. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Purwati, E., B Jaya, A.S. Duriat. 2000. Penampilan Beberapa Varietas Cabai dan Uji resistensi Terhadap Penyakit virus kerupuk. J Hort. 10(2):88-94.
- Ratnayani, K. et al. (2007). Analisis Variasi Nukleotida Daerah D-Loop DNA Mitokondria Pada Suatu Individu Suku Bali Normal. Jurnal Kimia. 1. (1), 7-14.
- Semangun, H. 2007. Penyakit – penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Gajah Mada University Press. Bulak Sumur : Yogyakarta.
- Setiadi, 1999, Bertanam Cabai Hibrida. Bina Cipta Bandung. 80 hal.
- Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant disease. Jurnal of Bioscience and Bioengineering 89 (6): 515-521.
- Sumaryono, Hendro. 1999. Kunci Bercocok Tanam Sayuran penting di Indonesia (seri produksi hortikultura II). Sinarbaru algensindo.
- Suryanto, 2003. Melihat Keragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler. Medan. Program Study Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam- Universitas Sumatra Utara.
- Suryaningsih, E., R, Surya., dan A.S Duriat. 1996. Penyakit Tanaman Cabai Merah dan Pengendaliannya. P: 65-83. Dalam A.S. Duriat, A.W.W. Hadigunda, T.A. Soetiarso, dan L. Prabaningrum (ed). Teknologi Produksi Cabai Merah. Balai Penelitian Tanaman sayuran. Pusat penelitian dan pengembangan tanaman Hortikultura. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Lembang-Bandung.
- Syamsudin. 2007. Pengendalian Penyakit Terbawa Benih pada Tanaman Cabai Menggunakan Agen Biokontrol dan Ekstrak Botani. <http://www.tomotou.net/702/07134.htm>. [18 desember 2009].
- Tenaya, I. M. N., 2001. Perwarisan Kandungan Fruktosa dan Kapsaisin Serta Aktivitas Enzim Peroksidase Pada Tanaman Hasil Persilangan Cabai Rawit Dengan Cabai Merah.
- Todar K. 2005. Genus *Basillus*. // [www. Textbook Bacteriologi. net](http://www.TextbookBacteriologi.net) [15 desember 2008].
- Wikipedia, ensiklopedia bebas bahasa indonesia. 2010. Bakteri. <http://id.wikipedia.org/wiki/bakteri>. [juni 2012]
- Wizna, 2007. Potensi *Basillus amyloliquefaciens* Isolat Serasah Hutan dalam Peningkatan Kualitas Pakan Capuran Empelur Sagu dan Isi Rumen dan Implikasinya terhadap Produktifitas ternak Unggas. [Disertasi]. Padang. Program Pascasarjana Universitas Andalas.

- Yoon, J. B. 2003. *Identification of Genetic Resource, Interpecific Hybridization and Inheritance Analysis for Breeding Pepper (Capsicum annum) Resistance to Anthracnosa*. [Disertation]. Seoul National University.
- Yusuf, S. 2005. Bakteri Serasah yang terdapat di hutan gambut ditinjau dari segi daerah tertutup dan terbuka [sripsi] Padang. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas.

Lampiran 1. Jadwal penelitian dari bulan Oktober 2011 – Juni 2012

Kegiatan	B U L A N K E											
	1			2			3			4		
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Persiapan alat dan bahan	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pengambilan sampel												
Isolasi bakteri												
Pengujian koloni bakteri												
Pengujian ekstra ekstrak seluler												
Pengolahan data												
Penulisan skripsi												

Lampiran 2. Ciri-ciri jamur *Colleototrichum gloeosporoides* penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai.

Ciri-ciri jamur *C. gloeosporoides* penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai (Semangun,1989; Holliday,1980):

1. Pertumbuhan koloni pada media PDA berbentuk lingkaran konsentris dengan warna putih abu-abu.
2. Konidia berbentuk batang dengan ujung yang membulat.
3. Tidak ada setae.
4. Membentuk aservulus dalam lingkaran yang konsentris dengan masa spora berwarna merah jambu.

Lampiran 3. Data morfologi koleksi isolat bakteri dari tanaman sawi

No	Kode Labor	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	Diameter jamur	Pengujian		Prediksi Genus	Ket
1	UBCFBj_001	Bundar	Putih	Entire	Cembung	2,1	+	+	<i>Basillus</i>	
2	UBCFBj_002	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,2			<i>Basillus</i>	
3	UBCFBj_003	Bundar	Krem	Entire	Cembung	3,5			<i>Basillus</i>	
4	UBCFBj_004	Bundar	Krem	Entire	Cembung	3,5			<i>Basillus</i>	
5	UBCFBj_005	-	-	-	-					*
6	UBCFBj_006	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,3			<i>Basillus</i>	
7	UBCFBj_007	-	-	-	-					*
8	UBCFBj_008	-	-	-	-					*
9	UBCFBj_009	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,9			<i>Basillus</i>	
10	UBCFBj_010	Bundar	Krem	Entire	Cembung	4			<i>Basillus</i>	
11	UBCFBj_011	Bundar	Krem	Entire	Cembung	4,5			<i>Basillus</i>	
12	UBCFBj_012	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4,5			<i>Basillus</i>	
13	UBCFBj_013	Bundar	Krem	Entire	Cembung	2	+	+	<i>Basillus</i>	
14	UBCFBj_014	Bundar	Krem	Entire	Cembung	2,2	+		<i>Basillus</i>	
15	UBCFBj_015	-	-	-	-					*
16	UBCFBj_016	Bundar	Krem	Entire	Cembung	2,5	+		<i>Basillus</i>	
17	UBCFBj_017	Bundar	Krem	Entire	Cembung	2,4	+		<i>Basillus</i>	
18	UBCFBj_018	Bundar	Krem	Entire	Cembung	2,5	+		<i>Basillus</i>	
19	UBCFBj_019	Bundar	Krem	Entire	Cembung	2,4	+		<i>Basillus</i>	
20	UBCFBj_020	Filamentous	Krem	Serrate	Agak cembung	4,5				
21	UBCFBj_021	Filamentous	Krem	Serrate	Agak cembung	2,5	+			
22	UBCFBj_022	Bundar	Krem	Entire	Cembung	2,4	+		<i>Basillus</i>	
23	UBCFBj_023	-	-	-	-					*
24	UBCFBj_024	-	-	-	-					*

Lampiran 3 (lanjutan)

25	UBCFBj_025	Bundar	Putih	Entire	Cembung	kontaminan		<i>Basillus</i>
26	UBCFBj_026	Bundar	Krem	Entire	Cembung	4,1		<i>Basillus</i>
27	UBCFBj_027	Bundar	Krem	Entire	Cembung	3,9		<i>Basillus</i>
28	UBCFBj_028	Bundar	Putih abu	Entire	Agak cembung	2,2	+	
29	UBCFBj_029	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,5		<i>Basillus</i>
30	UBCFBj_030	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,5		<i>Basillus</i>
31	UBCFBj_031	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,5		<i>Basillus</i>
32	UBCFBj_032	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,5		<i>Basillus</i>
33	UBCFBj_033	-	-	-	-			*
34	UBCFBj_034	-	-	-	-			*
35	UBCFBj_035	Bundar	Putih	Entire	Cembung	kontaminan		<i>Basillus</i>
36	UBCFBj_036	Bundar	Putih	Entire	Cembung	kontaminan		<i>Basillus</i>
37	UBCFBj_037	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,6		<i>Basillus</i>
38	UBCFBj_038	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4		<i>Basillus</i>
39	UBCFBj_039	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4		<i>Basillus</i>
40	UBCFBj_040	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4		<i>Basillus</i>
41	UBCFBj_041	Bundar	Putih	Entire	Cembung	kontaminan		<i>Basillus</i>
42	UBCFBj_042	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,9		<i>Basillus</i>
43	UBCFBj_043	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,9		<i>Basillus</i>
44	UBCFBj_044	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,1		<i>Basillus</i>
45	UBCFBj_045	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,5		<i>Basillus</i>
46	UBCFBj_046	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4		<i>Basillus</i>
47	UBCFBj_047	Bundar	Putih	Entire	Cembung	kontaminan		<i>Basillus</i>
48	UBCFBj_048	Bundar	Putih	Entire	Cembung	kontaminan		<i>Basillus</i>
49	UBCFBj_049	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,5		<i>Basillus</i>
50	UBCFBj_050	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,9		<i>Basillus</i>
51	UBCFBj_051	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,8		<i>Basillus</i>
52	UBCFBj_052	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4,2		<i>Basillus</i>
53	UBCFBj_053	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4		<i>Basillus</i>

84	UBCFBj_84	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,6			<i>Basillus</i>
85	UBCFBj_85	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,8			<i>Basillus</i>
86	UBCFBj_86	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4			<i>Basillus</i>
87	UBCFBj_87	Bundar	Putih	Entire	Cembung	2,7	+		<i>Basillus</i>
88	UBCFBj_88	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,9			<i>Basillus</i>
89	UBCFBj_89	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,5			<i>Basillus</i>
90	UBCFBj_90	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,3			<i>Basillus</i>
91	UBCFBj_91	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4			<i>Basillus</i>
92	UBCFBj_92	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4,5			<i>Basillus</i>
93	UBCFBj_93	Bundar	Putih	Entire	Cembung	3,9			<i>Basillus</i>
94	UBCFBj_94	Bundar	Putih	Entire	Cembung	4,1			<i>Basillus</i>
95	UBCFBj_95	Bundar	Putih	Entire	Cembung	2,3	+		<i>Basillus</i>
96	UBCFBj_96	Bundar	Putih	Entire	Cembung	kontaminan			<i>Basillus</i>
97	UBCFBj_97	-	-	-	-				*
98	UBCFBj_98	-	-	-	-				*
99	UBCFBj_99	-	-	-	-				*
100	UBCFBj_100	Filamentois	Krem	Serrate	Agak Cembung	kontaminan			
101	UBCFBj_101	Filamentois	Krem	Serrate	Agak Cembung	4			
102	UBCFBj_102	Filamentois	Putih	Serrate	Cembung	2,8	+		
103	UBCFBj_103	Filamentois	Putih	Serrate	Cembung	2,5	+		
104	UBCFBj_104	Filamentois	Putih	Serrate	Cembung	3,3			
105	UBCFBj_105	Filamentois	Putih abu	Serrate	Cembung	2,6	+		
106	UBCFBj_106	Filamentois	Krem	Serrate	Cembung	3,7			
107	UBCFBj_107	Filamentois	Krem	Serrate	Cembung	2,8	+		
108	UBCFBj_108	-	-	-	-				*
109	UBCFBj_109	-	-	-	-				*
110	UBCFBj_110	Filamentois	Putih	Entire	Merata	2,5	+		<i>Basillus</i>
111	UBCFBj_111	-	-	-	-				*

112	UBCFBj 112	Irregular	Putih	Labote	Merata	3,3			
113	UBCFBj_113	irregular	Putih	Labote	Agak cembung	4,2			
114	UBCFBj 114	Irregular	Putih	Labote	Merata	4,1			
115	UBCFBj_115	Irregular	Putih	Labote	Agak cembung	2,5	+		
116	UBCFBj 116	-	-	-	-	3,2			*
117	UBCFBj_117	Bundar	Putih	Entire	Cembung	2,8	+		<i>Basillus</i>
118	UBCFBj_118	Bundar	Putih	Entire	Cembung	2,7	+		<i>Basillus</i>
119	UBCFBj 119	Bundar	Putih	Entire	Merata	3,2			<i>Basillus</i>
120	UBCFBj_120	Bundar	Putih	Entire	Agak cembung	2,7	+		

Keterangan :

- + (positif)

:

Mampu mnghambat
- UBCFBj

:

Unand Bacterial Collection filoplen *Brassica juncea*
- Tidak ada pengamatan

:

*
- Diameter hari ke-7

:

≤ 3cm
- Pengujian I

:

Pengujian Antagonisme Koloni Bakteri
- Pengujian II

:

Pengujian ekstrak ekstra seluler bakteri
- Lokasi pengambilan sampel

:

UBCFBj 1-32 { Kecamatan Gunung Tanang }

UBCFBj 33-54 { Kecamatan Aia Batumbuak }

UBCFBj 55-120 { Kecamatan Danau Kembar }

Lampiran 4. Data diameter pertumbuhan jamur *C. gloeosporioides* pada pengujian antagonisme koloni isolat bakteri

Kode Labor	Diameter Koloni Jamur						
	1	2	3	4	5	6	7
UBC 1	0,5	1,2	1,4	1,8	1,9	2	2,1
UBC 13	0,5	0,8	1,2	1,4	1,6	1,9	2
UBC 14	0,5	1,2	1,5	1,7	1,8	1,9	2,2
UBC 16	0,5	1,1	1,5	1,8	2,2	2,4	2,5
UBC 17	0,5	0,9	1,3	1,5	1,8	2,1	2,4
UBC 18	0,5	1,3	1,6	1,8	2,1	2,3	2,5
UBC 19	0,5	0,9	1,2	1,5	1,9	2,0	2,4
UBC 21	0,5	1,1	1,5	1,8	2,1	2,2	2,5
UBC 22	0,5	1,2	1,5	1,9	2,2	2,4	2,4
UBC 28	0,5	1,0	1,5	1,5	1,7	2,1	2,2
UBC 82	0,5	1,1	1,4	1,6	2,0	2,4	2,4
UBC 83	0,5	1,1	1,2	1,7	2,0	2,1	2,3
UBC 87	0,5	1,2	1,5	1,8	2,1	2,4	2,7
UBC 95	0,5	1,2	1,4	1,4	1,6	1,9	2,3
UBC102	0,5	1,3	1,7	2,0	2,1	2,5	2,8
UBC 103	0,5	1,4	1,7	2,0	2,0	2,4	2,5
UBC 105	0,5	1,4	1,9	2,3	2,4	2,6	2,6
UBC 107	0,5	1,5	1,5	1,9	2,1	2,5	2,8
UBC 110	0,5	1,4	1,7	2,1	2,4	2,5	2,5
UBC 115	0,5	1,3	1,4	1,8	2,1	2,2	2,5
UBC 117	0,5	1,2	1,4	1,7	2,1	2,4	2,8
UBC 118	0,5	1,1	1,5	1,8	2,0	2,3	2,7
UBC 120	0,5	1,3	1,7	1,7	2,1	2,5	2,7
KONTROL	0,5	1,2	1,9	2,4	2,8	2,9	3,0